

ANETA SKUPIN

Untersuchungen zum Einfluss der Netzhautschichtung
auf die visuelle Funktion bei Patienten mit
ABCA4-Mutationen



Inauguraldissertation zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



ich bin wissenschaftler
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2018

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2018

© 2018 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition linguistique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Untersuchungen zum Einfluss der Netzhautschichtung
auf die visuelle Funktion bei Patienten mit
ABCA4-Mutationen**

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Aneta Skupin

aus Zabrze (Polen)

Gießen 2017

Aus der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Direktorin: Prof. Dr. med. Birgit Lorenz

Gutachter: Prof. Dr. med. Birgit Lorenz

Gutachter: PD Dr. Ulrich Gärtner

Tag der Disputation: 12.01.2018

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Hereditäre Netzhauterkrankungen.....	1
1.2	Aufbau und Physiologie der Netzhaut	1
1.2.1	Topographie und Photorezeptoren der Netzhaut	1
1.2.2	Schichtung der Retina	3
1.2.3	Phototransduktionsprozess	5
1.2.4	Vitamin-A-Zyklus	7
1.3	Rolle des ABC-Transport-Proteins ABCA4	9
1.4	Mutationen im <i>ABCA4</i> -Gen und ihre Auswirkungen	10
1.5	Mit Mutationen im <i>ABCA4</i> -Gen assoziierte Erkrankungen.....	12
1.5.1	Morbus Stargardt.....	13
1.5.2	Generalisierte Netzhautdystrophien mit Beginn in der Makula (autosomal-rezessive Zapfen-Stäbchen-Dystrophien)	15
1.5.3	Spätstadium der generalisierten Netzhautdystrophien (schwere progressive autosomal-rezessive Zapfen-Stäbchen-Dystrophie)	16
1.5.4	Bedeutung des <i>ABCA4</i> -Gens bei der AMD.....	17
1.6	Therapieansätze	18
1.7	Aufgabenstellung	19
2	Material und Methoden	20
2.1	Patientenkollektiv	20
2.2	Geräte und Methoden	21
2.2.1	Optische Kohärenztomographie	21
2.2.1.1	Normalbefund des OCT-B-Scans und histologisches Korrelat, aktuelle internationale OCT-Nomenklatur.....	23
2.2.1.2	Entwicklung der optischen Kohärenztomographie.....	26
2.2.1.3	Messprinzip der OCT-Systeme der vierten Generation	27
2.2.1.4	Visualisierung der Messergebnisse.....	28
2.2.1.5	Methoden zur Verbesserung der Bildqualität.....	30
2.2.2	Device Independent OCT Analysis (DiOCTA).....	32
2.2.3	Visusprüfung	35
2.2.4	Bildgebende Verfahren.....	36
2.2.4.1	Fundusphotographie	36
2.2.4.2	Fundusautofluoreszenz.....	37

2.2.5 Elektrophysiologische Untersuchungen	38
2.2.5.1 Ganzfeld-Elektroretinogramm	38
2.2.5.2 Multifokales Elektroretinogramm	38
2.2.6 Perimetrie	40
2.2.6.1 Goldmann-Perimetrie	40
2.2.6.2 Mikroperimetrie (= funduskontrollierte Perimetrie)	40
2.2.7 Farnsworth-Panel-D15-Test/ Lanthony-Panel-D15-desaturiert Test	41
2.2.8 Stammbaumerhebung	41
3 Ergebnisse	42
3.1 Zusammensetzung des Patientenkollektivs	42
3.2 Patientenkohorte	43
3.2.1 Gruppenspezifische Diagnosenverteilung	51
3.2.2 Visuelle Wahrnehmung	51
3.2.3 Organbefund	56
3.2.4 Elektrophysiologie	61
3.2.4.1 Ganzfeld-ERG	61
3.2.4.2 Multifokales ERG	62
3.2.5 Gesichtsfelduntersuchungen	62
3.2.6 „Foveal sparing“-Phänomen	69
3.3 Datenumfang des SD-OCT als Grundlage für die Segmentierung mit der DiOCTA-Software	75
3.4 Läsionsgröße	75
3.5 OCT-Auswertung mit Hilfe der DiOCTA-Software	82
4 Diskussion.....	93
4.1 Einschränkungen der OCT-Technik	94
4.2 Besonderheiten der Zusammensetzung des Patientenkollektivs	95
4.3 Besonderheiten der Einteilung der Patienten in Gruppen	96
4.4 Diskussionsbedürftige Grenzfälle	99
4.4.1 „Foveal sparing“-Phänomen	102
4.4.2 Anmerkungen zu den Befunden der Patientin mit subklinischer Expression der Erkrankung – ein Vergleich mit Normprobanden	103
4.5 Überlegungen zu Läsionsgrößen.....	104
4.6 Besonderheit der Studie - flächenbezogene Schichtdickenbestimmung	107
4.7 Überlegungen bezüglich der Dicke der einzelnen Schichten bzw. Schichtgruppen.....	108

4.7.1	Nervenfaserschicht.....	109
4.7.2	Ganglienzellschicht + Innere plexiforme Schicht (GCL+IPL).....	110
4.7.3	Innere Körnerschicht + Äußere plexiforme Schicht + Äußere Körnerschicht + Membrana limitans interna + Photorezeptoraußensegment (INL+OPL+ONL+ELM+OS).....	111
4.7.4	Innensegment-Ellipsoid + Photorezeptoraußensegment (ISe+OS).....	112
4.7.5	Retinales Pigmentepithel (RPE)	113
4.8	Ausblick.....	115
5	Zusammenfassung	117
6	Summary	119
7	Abkürzungsverzeichnis	121
8	Abbildungsverzeichnis	123
9	Tabellenverzeichnis	126
10	Literaturverzeichnis	127
11	Anhang	142
12	Ehrenwörtliche Erklärung zur Dissertation	157
13	Danksagung	158

1 Einleitung

1.1 Hereditäre Netzhauterkrankungen

Die hereditären Netzhautdystrophien umfassen eine große Gruppe unterschiedlicher erblicher Netzhauterkrankungen. Seit 1990 konnten ursächliche Mutationen in über 200 Genen beschrieben werden (Preising et al. 2014a). Die Gesamtprävalenz aller hereditären Netzhautdystrophien liegt bei ca. 1:3.000 (Kellner & Kellner 2009). Eine gebräuchliche Möglichkeit der Einteilung ist die Unterscheidung in lokal begrenzte und in generalisierte Dystrophieformen, wobei letztere sowohl primär peripher als auch primär zentral beginnen können. Die häufigste primär periphere Form einer generalisierten Netzhautdystrophie ist mit einer Prävalenz von 1:5.000 die Retinitis pigmentosa (Traboulsi 2012). Zu den zentralen (lokal begrenzten) Formen zählen die erblichen Makuladystrophien. Die häufigste hereditäre Makuladystrophie ist der Morbus Stargardt. Dieser wird fast ausschließlich durch Mutationen im *ABCA4*-Gen verursacht. Der Morbus Stargardt kann sich im Verlauf zu einer schweren progressiven Zapfen-Stäbchen-Dystrophie entwickeln. Patienten mit Morbus Stargardt leiden unter einer progredienten Visusminderung, primär zentralen Gesichtsfeldausfällen sowie Farbsinnstörungen (Näheres hierzu siehe 1.5.1).

1.2 Aufbau und Physiologie der Netzhaut

1.2.1 Topographie und Photorezeptoren der Netzhaut

Das Innere des Augapfels wird von der Netzhaut ausgekleidet. Diese dehnt sich von der Papille bis zur Ora serrata aus und geht in die Pars plana des Ziliarkörpers über. Die Netzhaut wird topographisch und für die klinische Praxis in drei Bereiche unterteilt: Der zentrale Bereich befindet sich innerhalb der Gefäßarkaden. Der mittelperiphere Bereich liegt zwischen den Gefäßarkaden und dem Äquator, der periphere Bereich ist vom Äquator bis zur Ora serrata lokalisiert (Kellner 2008),(Trepel 2004).

Am hinteren Pol befindet sich die Makula lutea mit einem Durchmesser von 5 mm (14°) (Curcio et al. 1990). Im Zentrum der Makula ist eine kleine Grube mit einem Durchmesser von 1,5 mm (5°) (Polyak 1968),(Curcio et al. 1990), welche als Fovea

centralis bezeichnet wird. Mit einem Durchmesser von 0,35 mm (1°) (Curcio et al. 1990) bildet die Foveola wiederum den zentralen Bereich der Fovea. Als dünnster Teil der Netzhaut besteht die Foveola nur aus Zapfen, ohne dass dort Bipolarzellen und Ganglienzellen anzutreffen sind. Die inneren Netzhautschichten sind zur Seite verlagert, sodass ein ungestörter Lichteinfall auf die photosensitiven Zellen der Foveola gewährleistet ist. Im Gegensatz dazu enthält die perifoveale Makula eine besonders dicke Ganglienzellschicht (Kellner 2008),(Kanski & Bowling 2008).

In der Summe beträgt die Gesamtzahl der Sehzellen in der gesamten Netzhaut ca. 60 - 125 Millionen Stäbchen, 3,2 - 6,5 Millionen Rot- und Grünzapfen sowie 0,3 - 0,6 Millionen Blauzapfen. Es besteht eine hohe individuelle Streuung der Photorezeptordichte. Die höchste Dichte an Zapfen lässt sich im Zentrum der Fovea beschreiben; hier befinden sich nur Rot- und Grün-Zapfen. Dort erreichen die Zapfen eine Dichte von 150.000 - 180.000 pro mm^2 . Die Zapfendichte nimmt in Richtung der Netzhautperipherie ab, sodass circa 1,5 mm (5°) von der Fovea entfernt die Zahl der Zapfen nur noch 6.000 pro mm^2 und in der Nähe der Ora serrata 2.500 pro mm^2 beträgt. Peripher ist die Verteilung der Zapfendichte asymmetrisch, mit einer höheren Zapfendichte nasal als temporal. Insgesamt, trotz der hohen Dichte, sind nur 5 - 10% aller Zapfen in der Fovea platziert (Abb. 1). Die Stäbchendichte ist am höchsten in einem ringförmigen Bereich 3 - 4 mm (ca. 20° ; temporal 18° , nasal 23°) von der Foveola entfernt und beträgt dort ca. 70.000 Stäbchen pro mm^2 . Sie nimmt von dort in Richtung Fovea rasch und zur Peripherie hin langsam ab (Abb. 1). Die Fovea ist stäbchenfrei. In der Peripherie liegt die Stäbchendichte bei ca. 30.000 - 40.000 pro mm^2 (Augustin 2007),(Curcio et al. 1990),(Übersicht bei: Coupland 2008),(Curcio et al. 1990),(Jonas et al. 1992),(Osterberg 1935).

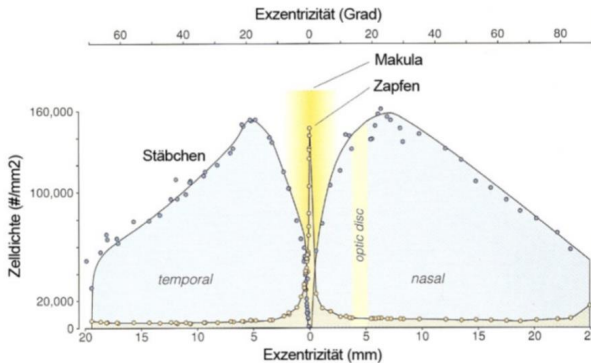


Abb. 1 Photorezeptorenverteilung

Mit freundlicher Genehmigung von Herrn Dr. W. Bowl (modifiziert nach Osterberg 1935 sowie Curcio und Mitarbeitern 1990)

1.2.2 Schichtung der Retina

Der Querschnitt der Retina beinhaltet mehrere eindeutig definierte Schichten. Diese lassen sich zum einen histologisch (Kellner 2008),(Garrison 1929), zum anderen nicht-invasiv mittels bildgebender Verfahren in vivo differenzieren. Seit 1991 ist es möglich, mittels der optischen Kohärenztomographie, einem bildgebenden Verfahren, das ursprüngliche histologische Retinamodell nachzuvollziehen (Huang et al. 1991). Mit der aktuellen Technik können bis zu 18 verschiedene Schichten der Netzhaut und Aderhaut in der hochauflösenden optischen Kohärenztomographie (spectral domain optical coherence tomography, SD-OCT) unterschieden werden (Staurengi et al. 2014). Die hochauflösenden OCT-Geräte (siehe 2.2.1) ermöglichen eine klinisch-pathologische Korrelation im Sinne einer optischen Biopsie. Das bedeutet, dass es eine Übereinstimmung zwischen der Darstellung der optischen Eigenschaften der Gewebe und der Darstellung des histologischen Präparates gibt.

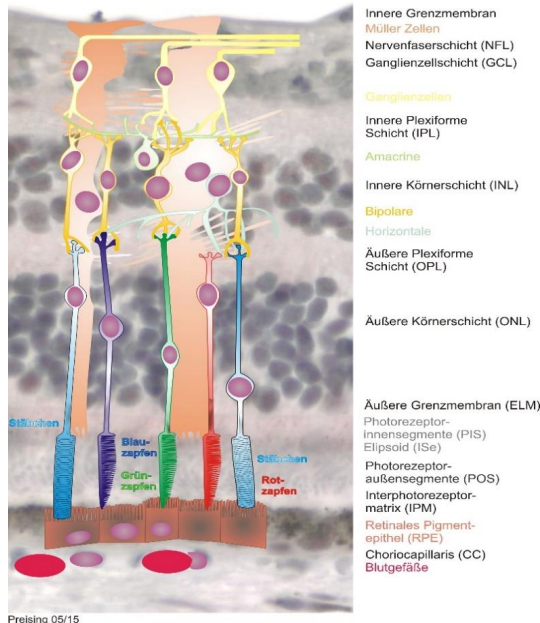


Abb. 2 Schematische Darstellung des Netzhautaufbaus

(mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD Dr. M. Preising)

Der retinale Schichtaufbau stellt sich im Lichtweg des Auges betrachtet histologisch wie folgt dar (Abb. 2): Die innere Grenzmembran (ILM) wird aus den langen Fortsätzen der Müller-Zellen gebildet. Die Nervenfaserschicht (NFL) ist aus Bündeln nichtmyelinisierter Ganglienzellaxone aufgebaut. In der Ganglienzellschicht (GCL) finden sich die Kerne der Ganglienzellen. Die innere plexiforme Schicht (IPL) ist aus den Axonen der Bipolar- und Amakrinzellen, den Dendriten der Ganglienzellen und deren Synapsen aufgebaut. Nach der IPL folgt die durch retinale Kapillaren vaskularisierte innere Körnerschicht (INL), welche sich aus den Zellkörpern der Bipolar-, Amakrin-, Horizontal- sowie Müller-Zellen (neuronales Stützgewebe) zusammensetzt. Im Bereich der äußeren plexiformen Schicht (OPL) befinden sich die Verbindungen zwischen den Bipolarzellen und den Photorezeptoren. Es folgt die äußere Körnerschicht (ONL). Hier befinden sich die Zellkerne der Stäbchen und der Zapfen. Daran anschließend findet sich die äußere Grenzmembran (ELM), welche durch Ausläufer der Müller-Stützzellen gebildet wird. Es folgen (in Richtung des Pigmentepithels) die Innen- (PIS-Schicht) und Außensegmente (POS-Schicht) der

Photorezeptoren, welche durch ein Verbindungszilium miteinander verbunden sind. Im Innensegment befinden sich das endoplasmatische Retikulum und die Mitochondrien. Histologisch lässt sich im Innensegment eine Ellipsoidzone (Bereich mit hoher Mitochondriendichte, welcher im OCT als Innensegment-Ellipsoid = ISe abgrenzbar ist) von einer Myoidzone unterscheiden. Die Proteinbiosynthese findet somit im Innensegment statt. Die Genprodukte für das Außensegment, den photosensitiven Teil der Photorezeptoren, müssen durch aktiven Transport über das Verbindungszilium dorthin transportiert werden. Histologisch sind die Außensegmente in Membranfalten (Mikrovilli) des darunter liegenden retinalen Pigmentepithels (RPE) eingelagert, die einen engen Kontakt zwischen beiden Schichten ermöglichen (Interdigitationszone).

(Grehn 2008),(Schmidt & Thews 2005),(Kellner 2008),(Trepel 2004),(Spaide & Curcio 2011),(Welsch & Sobotta 2003), (Preising & Lorenz 2009)

1.2.3 Phototransduktionsprozess

Im Innensegment der Photorezeptoren werden die für die Sehkaskade benötigten Proteine hergestellt und von dort in die Außensegmente transportiert, wo der eigentliche Phototransduktionsprozess stattfindet. Man unterscheidet zwei Membransysteme in den Stäbchen: die Diskmembranen der Scheibchen im Außensegment und die Plasmamembran, die das Außensegment umhüllt (Levin et al. 2011). Der lichtempfindliche Sehfärbstoff der Stäbchen ist das Rhodopsin. Dieser ist in die Zellmembranen (Diskmembranen und Plasmamembran) der Außensegmente eingelagert, die sich in bis zu 1.000 Membranscheiben / Membranlamellen falten (Oyster 1999). Bei den Zapfen spricht man von Zapfenopsinen. Die Zapfen besitzen nur eine Zellmembran, die zahlreiche Lamellen bildet (Abb. 3).

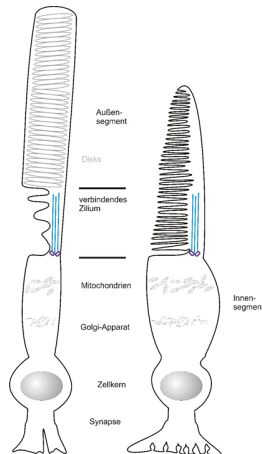


Abb. 3 Aufbau der Photorezeptoren

Links auf dem Bild ist eine Stäbchenzelle, rechts eine Zapfenzelle dargestellt (mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD Dr. M. Preising)

Die Photopigmente bestehen jeweils aus einem Proteinanteil (Opsin) und dem photosensitiven Retinoid 11-cis-Retinal. Letzteres wird durch die Energie eines Photons im Rahmen einer Stereoisomerisation in ein all-trans-Retinal umgewandelt. Durch die Isomerisierung des Retinoids wird das Opsin-Apoprotein sterisch verändert und aktiviert das G-Protein Transducin, das die Phosphodiesterase 6 aktiviert, welche dann zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) abbaut. Das Absinken des intrazellulären cGMP-Spiegels führt daraufhin zum Verschluss von Kationenkanälen für Na^+ und Ca^{2+} in der Membran der Außensegmente. In der Folge kommt es zu einer Hyperpolarisation der Photorezeptorzelle (Schmidt & Thews 2005),(Levin et al. 2011),(Kellner 2008), die intrazelluläre Kalziumkonzentration steigt. Um nach stattgefundenem Phototransduktionsprozess wieder den Ruhezustand des Stäbchens bzw. Zapfens herzustellen, muss der cGMP-Spiegel im Außensegment wieder ansteigen. Über die Erhöhung des Kalziumspiegels erfolgt eine Aktivierung von Mediatorproteinen zur Aktivierung der retinalen Guanylatzyklase (GUCY2D), die den cGMP-Spiegel wieder erhöht.

(Preising et al. 2014a),(Kellner 2008),(Levin et al. 2011),(Schmidt & Thews 2005),(Beharry et al. 2004),(Quazi & Molday 2014),(Molday et al. 2006),(Saari 2012).

1.2.4 Vitamin-A-Zyklus

Das im Rahmen des Phototransduktionsprozesses ständig anfallende all-trans-Retinal wird im Rahmen des Vitamin-A-Zyklus, der zum Teil in den Photorezeptoren selbst, zum Teil in den Zellen des retinalen Pigmentepithels stattfindet, wieder zu 11-cis-Retinal regeneriert, welches erneut für die Sehkaskade zur Verfügung gestellt wird. Zunächst verbindet sich das all-trans-Retinal mit Phosphatidylethanolamin (PE) zu N-Retinylidene-Phosphatidylethanolamin (APE). APE wird anschließend durch das in die Diskmembranen der Außensegmente eingelagerte Transmembran-Transportprotein ABCA4 über die Diskmembran in das Zytoplasma transportiert (Abb. 5). Das ABCA4-Protein bindet dabei das APE mit hoher Affinität. Im Zytoplasma des Außensegments findet nach der Abspaltung von PE eine Dehydrogenase-vermittelte Umwandlung des Aldehyds all-trans-Retinal in den Alkohol all-trans-Retinol statt. Nach Transport des all-trans-Retinols in das retinale Pigmentepithel durch das Interphotorezeptor-Retinoid-bindende Protein (IRBP) wird dieses durch das Enzym Lecithin-Retinol-Acyl-Transferase (LRAT) in all-trans-Retinyl-Ester überführt. Anschließend findet die Umwandlung in 11-cis-Retinol statt. Dieser Schritt wird durch die Isomerohydrolase RPE65 (Retinal-pigment-epithelium specific protein 65 kDa) katalysiert. Die Retinoldehydrogenase 5 (RDH5) führt dieses dann in 11-cis-Retinal über, welches dem Photorezeptor wieder zur Verfügung gestellt wird (Abb. 4).

(Preising et al. 2014a),(Kellner 2008),(Levin et al. 2011),(Schmidt & Thews 2005),(Beharry et al. 2004),(Quazi & Molday 2014),(Molday et al. 2006),(Saari 2012).

1.3 Rolle des ABC-Transport-Proteins ABCA4

ABC-Transporter sind evolutionär hochkonservierte, große Membranglykoproteine, die sich von den Prokaryonten bis hin zu komplexen Organismen in allen Spezies nachweisen lassen (Higgins 1992),(Tsybovsky et al. 2010),(Molday et al. 2009). Sie vermitteln den energieabhängigen Transport unterschiedlicher spezifischer Substrate über die Zellmembranen (Dawson et al. 2007),(Kaminski et al. 2006),(Allikmets, Singh, et al. 1997),(Borst et al. 2000),(Hollenstein et al. 2007). ABC-Transporter besitzen zwei ATP-Bindekassetten sowie zwei Transmembrandomänen, die eine Membranpore für den eigentlichen Transport bilden. Die ATP-Bindekassetten hydrolysieren ATP, wodurch die Energie für den Substrattransport generiert wird (Tsybovsky et al. 2010),(Allikmets, Singh, et al. 1997). Bis heute wurden im menschlichen Genom 49 unterschiedliche ABC-Transporter identifiziert (Tsybovsky et al. 2010). Die ABC-Proteine werden in sieben verschiedene Unterfamilien (ABCA - ABCG) unterteilt (Dean & Allikmets 2001),(Molday et al. 2009). Die humane Subfamilie A (ABCA), zu der auch das ABCA4-Protein gehört, bildet dabei mit 12 verschiedenen Transportern eine der größten Untergruppen. Die einzelnen Subtypen weisen dabei untereinander deutliche Strukturhomologien auf. Diese werden als ABCA1 bis ABCA13 bezeichnet (die Existenz von ABCA11 wurde im Nachhinein widerlegt). Diese ABCA-Transporter sind aus ca. 2.300 Aminosäuren aufgebaut (Wenzel et al. 2007).

Das ABCA4-Protein wird durch das *ABCA4*-Gen kodiert. Der *ABCA4*-Genlocus wurde auf Chromosom 1p22.1 lokalisiert. Im Jahr 1997 wurde das humane *ABCA4*-Gen erstmals geklont (Allikmets, Singh, et al. 1997). Gerber et al. (1998) und Allikmets et al. (1998) stellten fest, dass das *ABCA4*-Gen aus mindestens 50 Exons zusammensetzt ist und sich über ca. 150 Kilobasen (kb) erstreckt. Das durch das Gen kodierte Protein ABCA4 ist 256 kDa groß und setzt sich aus 2.273 Aminosäuren zusammen (Sullivan 2009),(Allikmets, Singh, et al. 1997). Es besteht aus vier Domänen, zwei mit ATP-Bindungsstellen und zwei mit jeweils sechs integralen Transmembrandomänen (Abb. 5). Das ABCA4-Protein ist in den Diskmembranen der Photorezeptor-Außensegmente lokalisiert (Illing et al. 1997),(Papermaster et al. 1978),(Allikmets, Singh, et al. 1997),(Allikmets, Shroyer, et al. 1997). Zunächst konnte seine Existenz in Stäbchen nachgewiesen werden (Allikmets, Singh, et al. 1997). Später konnte gezeigt werden, dass es sowohl in den Stäbchen als auch in den Zapfen vorkommt (Molday et al. 2000). Das *ABCA4*-Gen wird fast ausschließlich in der Retina exprimiert. Dort kann das

Genprodukt in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden. Sun et al. beschrieben erstmals die Transportfunktion des ABCA4-Proteins (Sun & Nathans 2001).

1.4 Mutationen im *ABCA4*-Gen und ihre Auswirkungen

Historisch gesehen war das ABCA4-Protein der erste ABCA-Transporter, der mit humanen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht werden konnte (Allikmets, Singh, et al. 1997),(Allikmets, Shroyer, et al. 1997). Bereits Untersuchungen an *ABCA4*-knock-out-Mäusen deuteten auf eine Rolle des ABCA4-Proteins bei der Ansammlung des A2E und eine damit verbundene retinale Degeneration hin (Weng et al. 1999). Es zeigte sich in diesem Tiermodell, dass ein fehlendes Protein in den Membranscheiben der Photorezeptoraußensegmente – damals „rim protein“ genannt – für die Erkrankung verantwortlich war (Papermaster et al. 1978),(Weng et al. 1999). In den RPE-Zellen dieser Mäuse kam es aufgrund des *ABCA4*-Gendefektes zu einer starken Anhäufung von A2E (Weng et al. 1999). Im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen zeigte sich bei den *ABCA4*-knock-out-Mäusen eine lichtabhängige Erhöhung von all-trans-Retinal, N-Retinylidene-PE und PE in der Netzhaut (Weng et al. 1999),(Mata et al. 2001). Es wurde jedoch darüberhinaus auch eine lichtunabhängige Akkumulation von A2E-reichem Lipofuszin in *ABCA4*-knock-out-Mäusen beobachtet (Boyer et al. 2012),(Quazi & Molday 2014).

Die pathophysiologischen Zusammenhänge, welche bei Mutationen im *ABCA4*-Gen zur Schädigung des retinalen Pigmentepithels führen, stellen sich wie folgt dar: Im Rahmen des Vitamin-A-Zyklus kommt es zu einer ständigen Bildung von APE (siehe 1.2.4). Wird dieses aufgrund einer *ABCA4*-Mutation nicht oder vermindert durch das ABCA4-Protein aus den Membrandisks der Photorezeptor-Außensegmente heraustransportiert und in all-trans-Retinal und Phosphatidylethanolamin gespalten, häuft es sich kontinuierlich im Disklumen der Membranstapel an (Traboulsi 2012),(Kellner 2008). Durch die Kondensation von APE mit einem weiteren all-trans-Retinal-Molekül entsteht im Lumen der Disks N-Retinylidene-N-Retinyl-Phosphatidylethanolamin (A2PE). Die Außensegmente der Photorezeptoren werden durch angrenzende RPE-Zellen phagozytiert und durch lysosomale Enzyme degradiert. Dabei wird das A2PE im RPE zu A2E hydrolysiert, welches ein toxischer Hauptbestandteil von Lipofuszin in den RPE-Zellen ist (Molday et al. 2006),(Übersicht bei: Fafowora et al 2014).

Das retinale Pigmentepithel hat nicht nur einen wichtigen Anteil an der ständigen Erneuerung der lichtsensitiven Pigmente (siehe 1.2.4), sondern auch an der kontinuierlichen morphologischen Erneuerung der Photorezeptor-Außensegmente. So werden täglich ca. 10% der Disks der Außensegmente abgestoßen und durch Phagozytose in das RPE aufgenommen, wo sie abgebaut und recycelt werden (Zinn & Marmor 1979). Die im Rahmen des Verbrauchsprozesses abgetrennten Anteile der Außensegmente werden nach der Phagozytose im RPE lysosomal abgebaut. Kommt es nun in den Photorezeptoren zu einer pathologischen Anhäufung von A2PE, wird auch dieses im Rahmen des physiologischen Phagozytoseprozesses der Membranscheiben durch das RPE mit aufgenommen. Hierdurch akkumulieren im Laufe der Zeit in den Pigmentepithelzellen nicht weiter abbaubare Stoffwechselprodukte, die als Lipofuszin-Granula abgelagert werden. Ein wichtiger Bestandteil dieser Lipofuszin-Granula ist das autofluoreszente N-Retinyldene-N-Retinyethanolamin (A2E), welches wie oben beschrieben im Rahmen von *ABCA4*-Genmutationen vermehrt anfällt. Das hochtoxische A2E lagert sich in den Lipofuszingranula innerhalb der RPE-Zellen ab und schädigt deren Stoffwechsel (Traboulsi 2012). Der Abbau von Phospholipiden in Außensegmenten der Photorezeptoren durch die RPE-Zellen wird beeinträchtigt. Dies induziert die Freisetzung von pro-apoptotischen Proteinen aus den Mitochondrien (Parish et al. 1998). Es kommt zu einer A2E-induzierten Hemmung des lysosomalen Stoffwechsels durch einen intralysosomalen pH-Anstieg (Holz et al. 1999). Folge ist eine Hemmung der intralysosomalen Enzymaktivität mit Akkumulation nicht oder nur unvollständig abgebauter Stoffwechselprodukte. Das vermehrt gebildete Lipofuszin ist in der Lage, reaktive Sauerstoffverbindungen wie Superoxid-Anionen, Singulett-Sauerstoff und Hydroxylradikale zu bilden (Rózanowska et al. 1998). Hinzu kommt eine durch Lipofuszin verursachte lichtabhängige Lipidperoxidation. Letztendlich kommt es durch all diese Schädigungsmechanismen zu einer Zerstörung der RPE-Zellen (Abb. 6) (Kellner 2008),(Quazi & Molday 2014),(Weng et al. 1999),(Mata et al. 2000),(Koeneke 2003),(Klevering et al. 2004). Histopathologische Studien haben solche massiven (bis 5-fachen) Akkumulationen von Lipofuszin-Material im RPE von Patienten mit Morbus Stargardt gezeigt (F C Delori et al. 1995),(C D Birnbach et al. 1994),(Mata et al. 2000),(Steinmetz et al. 1991).

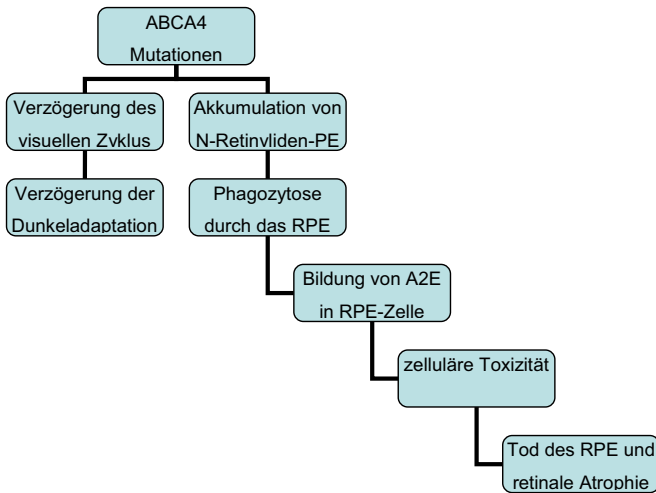


Abb. 6 Mechanismus der retinalen Schädigung durch Mutationen im ABCA4-Gen

(modifiziert nach Chappelow & Traboulsi, 2012)

1.5 Mit Mutationen im ABCA4-Gen assoziierte Erkrankungen

Mutationen im *ABCA4*-Gen führen zu einem breiten Spektrum autosomal-rezessiver hereditärer Netzhauterkrankungen. Bis heute konnten bereits über 2.342 unterschiedliche Mutationen nachgewiesen werden (Auflistung unter <http://exac.broadinstitute.org/gene/ENSG00000198691>). Bei den *ABCA4*-vermittelten Netzhautdystrophien kommt es aufgrund der unter 1.4 beschriebenen Mechanismen zu einer Zerstörung der RPE-Zellen und zur Degeneration der Photorezeptoren (Weng et al. 1999). Mutationen im *ABCA4*-Gen führen auch zu Phänotypen, die sich anders als der klassische Morbus Stargardt und der Fundus flavimaculatus präsentieren, was Schwierigkeiten bei der Diagnosestellung verursachen kann (Lorenz & Preising 2005),(Traboulsi 2012),(Heimann & Kellner 2010). *ABCA4*-Mutationen wurden bei altersbedingter Makuladegeneration (AMD, ARMD2, OMIM: 153800) (Molday et al. 2009),(Koenekoop 2003),(Allikmets 2000), Morbus Stargardt (STGD1, OMIM: 248200) sowie einer milderen Variante von Morbus Stargardt, dem Fundus flavimaculatus (FF, OMIM: 248200) (Allikmets, Singh, et al. 1997), außerdem bei Patienten mit autosomal-rezessiver Retinitis pigmentosa (arRP19, OMIM: 601718) (Allikmets 2000),(Klevering et al. 2005),(Klevering et al. 2004),(Cremers et al. 1998),(Fishman et al.

2003),(Martínez-Mir et al. 1997),(Xi et al. 2009), Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (ZSD, CORD3, OMIM: 604116) (Maugeri et al. 2000),(Birch et al. 2001),(Ducroq et al. 2006) sowie als besonders schwere Ausprägung bei frühkindlicher schwerer Netzhautdystrophie (EOSRD) (Lorenz et al. 2010) beschrieben. Ein Phänotyp, der während den frühen Stadien der Krankheit funduskopisch, angiographisch sowie hinsichtlich der Netzhautfunktion dem Morbus Stargardt ähnelt, jedoch rasch voranschreitet, wird als schwere progressive Zapfen-Stäbchen-Dystrophie bezeichnet (Xi et al. 2009),(Lorenz & Preising 2005). Auch die unterschiedlichen o.g. Phänotypen bei *ABCA4*-Gen Mutationen können zu einem gemeinsamen Endstadium mit massiver Retinaatrophie führen (Klevering et al. 2005). In einem Modell wurde versucht, das breite phänotypische Erscheinungsspektrum abhängig von der Schwere der vorhandenen Mutationen einzuteilen (mit zunehmender Schwere der Erkrankung von ARMD2 über STGD1/FF und CORD3 bis hin zu RP19) (Maugeri et al. 2000),(Sullivan 2009),(Bolz 2005),(Kellner 2008),(Allikmets, Shroyer, et al. 1997).

1.5.1 Morbus Stargardt

Die Erkrankung wurde zuerst im Jahr 1909 vom deutschen Ophthalmologen Karl Stargardt beschrieben. Dieser studierte Medizin in Heidelberg, Erlangen und Berlin, war anschließend als Arzt in Kiel (wo er auch die grundlegende Schrift zur heute als Morbus Stargardt bezeichneten Netzhautdystrophie verfasste) und Straßburg tätig. Im weiteren Verlauf übernahm er die Chefarztposition in Bonn, später in Marburg, wo er die Nachfolge von Professor Alfred Bielschowsky antrat, der zu diesem Zeitpunkt nach Breslau wechselte.

Er nannte die Erkrankung eine „familiäre, progressive Degeneration in der Maculagegend des Auges“ (Stargardt 1909). Die 1962 durch Franceschetti beschriebene Augenerkrankung namens Fundus flavimaculatus (Franceschetti 1965) wurde später als eine andere Manifestation der gleichen genetischen Ursache identifiziert (Fishman et al. 1999),(Kaplan et al. 1993).

Im Jahr 1997 wurden Mutationen im *ABCA4*-Gen mit beiden Erkrankungen verknüpft (Allikmets, Singh, et al. 1997). *ABCA4* ist auf Chromosom 1p22.1 (ID: 601691) lokalisiert und kodiert 50 Exone.

Der Morbus Stargardt (STGD1, OMIM: 248200) ist mit einer Inzidenz von 1:10.000 die häufigste hereditäre Makuladystrophie (Blacharski 1988),(Walia & Fishman 2009).

STGD1 wird autosomal-rezessiv vererbt. Die autosomal-dominant vererbte Form (STGD3, OMIM: 600110) ist mit Mutationen im *ELOVL4*-Gen verbunden (Zhang et al. 2001). Der Beginn des Morbus Stargardt liegt zwischen dem 5. und 87. Lebensjahr (Traboulsi 2012),(Rotenstreich et al. 2003). Ca. 60% der Betroffenen erkranken in den ersten vier Lebensdekaden. Bei jungen Patienten tritt oft ein bilateraler, nicht selten innerhalb weniger Monate rasch progredienter Visusverlust in den ersten zwei Lebensdekaden ein (Kjellström 2014). Bei späterem Beginn ist der Verlauf oft langsamer (Rotenstreich et al. 2003). Somit ist die Progression des Sehverlustes abhängig vom Alter bei Symptombeginn (Wirtitsch et al. 2005). 25% der Patienten haben eine Sehschärfe von mehr als 0,5 auf zumindest einem Auge (Lois et al. 2001). Eine Sehschärfe zwischen 0,1 und 0,05 findet man bei 50% der Patienten (Traboulsi 2012),(Fishman et al. 1999),(Rotenstreich et al. 2003). Bei 4% der Patienten liegt der Visus unter 0,05 (Rotenstreich et al. 2003),(Fishman et al. 1987).

Als Erstsymptom wird oft ein Verschwommensehen berichtet. Auch bei einer sehr guten Sehschärfe von 1,0 können Patienten über eine Dyschromatopsie (gestörte Farbwahrnehmung) und eine Veränderung in der Qualität des Sehens klagen. Im frühen Erkrankungsstadium ist aber auch eine zufällige Diagnose ohne subjektive Visusminderung im Rahmen einer klinischen Routinekontrolle möglich (Übersicht bei: Chappelaw et al. 2012). Zu dem typischen Erscheinungsbild gehören unspezifische Farbsinnstörungen und Zentralskotome. Im Frühstadium findet sich bei der Fundusuntersuchung oft nur eine Veränderung des Foveolarreflexes. Später kommt es zur Degeneration des retinalen Pigmentepithels bis hin zur Schießscheibenmakulopathie oder einer ausgeprägten geographischen Atrophie (Gerth et al. 2002),(Kellner 2008),(Heimann & Kellner 2010),(Koenekoop 2003). Funduskopisch erkennt man am hinteren Pol gelbliche, unscharf begrenzte, unregelmäßige Flecken in sehr variabler Ausprägung (Traboulsi 2012). Durch einen erhöhten Lipofuszingehalt lassen sich diese in der Autofluoreszenz deutlich darstellen (Theelen et al. 2008),(Lois et al. 2004),(Chen et al. 2010). Zu Beginn der Erkrankung sind die Antworten im Ganzfeld-ERG typischerweise normal oder lediglich gering reduziert (Kellner 2008),(Lois et al. 2001),(Itabashi et al. 1993),(Armstrong et al. 1998). In den späteren Stadien des Morbus Stargardt (siehe 1.5.3) sind reduzierte Amplituden im photopischen und skotopischen Ganzfeld-ERG möglich (Traboulsi 2012),(Fishman et al. 1999). Bereits im Frühstadium erkennt man im multifokalen ERG eine Reduktion der zapfenabhängigen Reizantworten (Gerth et al. 2002),(Kellner & Kellner 2009),(Bach & Kellner 2000),(Lois et al. 2001). Im OCT sieht man eine Minderung der zentralen Netzhautdicke (Lim et al. 2008),(Michael Stur et al. 2007),(Wirtitsch et al. 2005),(Kellner 2008). Die oben

beschriebenen Flecken stellen sich teilweise als Verdickung im RPE dar. Die Flecken korrespondieren im OCT mit Ablagerungen im RPE oder in der ONL der Retina (Querques et al. 2006),(Traboulsi 2012).

Der Phänotyp der Erkrankung kann sich jedoch im Laufe der Zeit in unterschiedlicher Art und Weise ändern (siehe 1.5.2, 1.5.3, 1.5.4) (Fishman et al. 1999),(Heimann & Kellner 2010).

1.5.2 Generalisierte Netzhautdystrophien mit Beginn in der Makula (autosomal-rezessive Zapfen-Stäbchen-Dystrophien)

Patienten mit ABCA4-Dysfunktion weisen eine breite Palette an klinischen Befunden auf (Mullins et al. 2012). Ein weiterer möglicher Phänotyp bei *ABCA4*-Mutationen ist die Entwicklung einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie. Bei Letzterer handelt es sich um eine heterogene Gruppe von Netzhautdystrophien mit einer zapfenbetonten Beeinträchtigung der Photorezeptorenfunktion (Kellner 2008).

Mutationen im *ABCA4*-Gen sind für 23 bis 65% der Fälle von autosomal-rezessiver Zapfen-Stäbchen-Dystrophie verantwortlich (Koenekoop 2003),(Traboulsi 2012),(Birch et al. 2001),(Klevering et al. 2004),(Kitiratschky et al. 2008). Typischerweise finden sich hierbei als initiale Symptome Blendungsempfindlichkeit, eine progrediente Visusminderung, Farbsinnstörungen und Zentralskotome (Kjellström 2014),(Ducroq et al. 2006). In Frühstadien präsentiert sich funduskopisch bei etwa einem Drittel dieser Patienten ein völlig unauffälliger Befund (Heimann & Kellner 2010). Meistens finden sich jedoch am hinteren Pol variable RPE-Veränderungen. Beim Fortschreiten der Erkrankung können sich eine Papillenabblassung und eine Gefäßverengung sowie Pigmentverklumpungen zentral und in der Peripherie entwickeln (Heimann & Kellner 2010),(Klevering et al. 2002). Die Veränderungen der Fundusautofluoreszenz (FAF) sind variabel (Lois et al. 2004). Oft findet man z. B. eine deutliche Erhöhung der FAF-Intensität bei Reduzierung der Nahinfrarot-Intensität (Kellner & Kellner 2009). Eine ausführliche Beschreibung der FAF folgt im Kapitel 2.2.4.2. Bei *ABCA4*-Gen-assoziierten Netzhautdystrophien lässt sich in der Fluoreszeinangiographie oft eine dunklere Aderhaut („dark choroid“) aufgrund der vermehrten Lipofuszin-Akkumulation im RPE darstellen (Kellner & Kellner 2009). Im OCT findet man typischerweise eine Abnahme der Netzhautdicke, insbesondere durch Reduktion der Photorezeptorschichten und des RPE (Lim et al. 2008),(Heimann & Kellner 2010),(M. Stur et al. 2007). In der Perimetrie fallen zunächst zentrale und parazentrale

Gesichtsfelddefekte auf, welche sich später bis in die Peripherie ausdehnen können. Es findet sich eine Zapfen-betonte Amplitudenreduktion im Ganzfeld-ERG (Maugeri et al. 2000); in Spätstadien kann jedoch auch die Stäbchenfunktion bis unterhalb der Nachweisgrenze herabgesetzt sein (Ducroq et al. 2006),(Kellner 2008). Das multifokale ERG zeigt typischerweise bereits früh eine ausgeprägte Amplitudenreduktion (Gerth et al. 2002),(Lois et al. 2001),(Birch et al. 2001)(Klevering et al. 2002).

1.5.3 Spätstadium der generalisierten Netzhautdystrophien

(schwere progressive autosomal-rezessive Zapfen-Stäbchen-Dystrophie)

Wie oben erwähnt können sich Mutationen im *ABCA4*-Gen als Morbus Stargardt aber auch als Zapfen-Stäbchen-Dystrophien und als ein Bild einer atypischen Retinitis pigmentosa darstellen. Der Übergang zwischen Morbus Stargardt und generalisierten Netzhautdystrophien ist fließend. Ob sich das Krankheitsbild auf die Makula beschränkt oder sich im Verlauf zu einem ausgedehnteren Befund entwickelt, ist nicht vorhersehbar (Lorenz & Preising 2005),(Kellner & Kellner 2009).

Man vermutet, dass Mutationen im *ABCA4*-Gen für ca. 2 - 5% der Retinitis pigmentosa-Fälle verantwortlich sind (Klevering et al. 2004),(Cremers et al. 1998). Die Entwicklung einer autosomal-rezessiven Retinitis pigmentosa zählt laut einigen Autoren als die schwerste Form der Netzhautdystrophie, die durch Mutationen im *ABCA4*-Gen verursacht wird. Ihre Entstehung wird durch einen vollständigen Verlust der *ABCA4*-Protein-Aktivität erklärt (Maugeri et al. 2000),(Kaminski et al. 2006).

Bei der typischen Retinitis pigmentosa ist die Nachtblindheit das klassische Frühsymptom, gefolgt von peripheren Gesichtsfeldausfällen (Maugeri et al. 2000),(Kellner 2008). Farbsehstörungen und Visusminderung treten erst in späteren Stadien auf. Funduskopisch sieht man eine abgeblasste Papille, enge Gefäße und mittelperipher gelegene Knochenkörperchen (Cremers et al. 1998),(Lois et al. 2001),(Maugeri et al. 2000). Ein charakteristisches morphologisches Zeichen der RP ist ein perimakulärer Ring erhöhter Fundus-Autofluoreszenz im Bereich der größten Stäbchendichte. Dieser verkleinert sich im Verlauf (Robson et al. 2006). Teilweise wird das Auftreten eines ca. 15 - 20° exzentrisch gelegenen Ringskotoms beobachtet. Das zentrale Gesichtsfeld bleibt lange erhalten. Die Stäbchenantworten im Ganzfeld-ERG sind stark reduziert oder nicht mehr nachweisbar bei noch gut erhaltenen Zapfenantworten. In fortgeschrittenen Stadien nehmen auch die Zapfenantworten ab bis schließlich ein vollständiger Funktionsverlust nachzuweisen ist (Kellner

2008),(Klevering et al. 2004). Das multifokale ERG zeigt oft nur zentral vorhandene Potentiale (Maugeri et al. 2000),(Lois et al. 2001).

Bei der durch Mutationen im *ABCA4*-Gen verursachten schweren progressiven Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (die der früher auch als Retinitis pigmentosa inversa bezeichneten Form entspricht) ist im Vergleich zu der typischen Retinitis pigmentosa bereits primär der Visus beeinträchtigt. Eine Beteiligung der Zapfen äußert sich durch eine frühe Veränderung der zentralen Sehschärfe (Lorenz & Preising 2005). Die Patienten weisen zudem auch Veränderungen im multifokalen ERG sowie Zentralskotome auf. Die beschriebenen Befunde sprechen im Unterschied zu dem typischen Krankheitsbild einer Retinitis pigmentosa für eine Funktionseinschränkung, die nicht nur die Stäbchen, sondern auch die Funktion der Zapfen bereits früh im Krankheitsverlauf betrifft. Mit zunehmender Erkrankungsdauer entstehen zusätzlich die für eine für Retinitis pigmentosa typischen Fundusveränderungen wie Knochenkörperchen, abgeblasste Papille und Gefäßverengung (Klevering et al. 2005).

Ein RP-ähnliches Bild in späten Stadien (periphere Knochenkörperchen, Nachtblindheit, skotopische Amplitudenminderung im ERG etc.) reicht somit nicht aus, um solche Patienten (mit sekundärem Auftreten peripherer Veränderungen) als RP-Patienten einzustufen. Das Voranschreiten von einer frühen zentralen Sehminderung bis zum vollständigen Verlust des zentralen und peripheren Sehens (begleitet von Nachtblindheit und einem RP-ähnlichen Fundusbild) sollte daher als schwere progressive Zapfen-Stäbchen Dystrophie eingestuft werden (Lorenz & Preising 2005),(Xi et al. 2009),(Beit-Ya'acov et al. 2007).

1.5.4 Bedeutung des *ABCA4*-Gens bei der AMD

Die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) teilt einige phänotypische Ähnlichkeiten mit dem Morbus Stargardt. Dazu gehören die Ansammlung von zellulärem Debris (Drusen) und die progressive geographische Atrophie des RPE in der Makularegion, die mit einem Verlust der Funktion der Photorezeptoren einhergeht (Allikmets, Singh, et al. 1997).

Nach heutigem Wissensstand ist davon auszugehen, dass auch bei der AMD genetische Faktoren eine Rolle spielen (Übersicht bei: Fafowora et al. 2012). Während einige Autoren eine wesentliche Rolle des *ABCA4*-Gens bei der Entwicklung eines AMD-Phänotyps postulieren (Allikmets, Shroyer, et al. 1997),(Allikmets 2000) gibt es in

anderen Studien Hinweise darauf, dass Mutationen im *ABCA4*-Gen nur eine untergeordnete Rolle bei einem kleinen Prozentsatz von Fällen (ca. 4%) spät auftretender AMD spielen (De La Paz et al. 1999),(Fritsche et al. 2012),(Guymer et al. 2001). Die AMD könnte somit eine spät auftretende Komplikation einer reduzierten Aktivität des *ABCA4*-Proteins, abhängig von dem genetischen Hintergrund, darstellen (Lorenz & Preising 2005). AMD stellt eine Erkrankung dar, die multifaktoriell verursacht wird. Über die Relevanz des *ABCA4*-Gens bei AMD besteht in der Literatur noch kein Konsens.

1.6 Therapieansätze

Es existiert bislang noch keine in der klinischen Routine einsetzbare effektive Behandlung hereditärer Netzhautdystrophien. Als kausalen Ansatz zur Therapie des Morbus Stargardt ist die somatische Gentherapie zu nennen (Stieger & Lorenz 2014). Hierbei werden genetische Informationen mittels eines viralen Vektors in das Genom der Zielzellen (in diesem Fall der retinalen Photorezeptoren) eingeschleust, um dort die Expression bestimmter Proteine zu bewirken. Es wird zwischen einer unspezifischen und einer spezifischen Gentherapie unterschieden. Während bei der unspezifischen Gentherapie z. B. Gene zur Produktion neuroprotektiver Faktoren in die Zielzellen eingebracht werden, handelt es sich bei der spezifischen Gentherapie um die Transfektion der Photorezeptorzellen mit einem für die jeweilige Krankheitsentität spezifischen Gen, welches in seiner Funktion ersetzt werden soll – im Falle des Morbus Stargardt also mit dem intakten *ABCA4*-Gen. Die Wirksamkeit der spezifischen somatischen Gentherapie unterschiedlicher hereditärer Netzhautdystrophien (u. a. Morbus Stargardt, X-chromosomale Retinitis pigmentosa, juvenile Retinoschisis, Chorioideremie) wird derzeit in klinischen Studien untersucht; am weitesten fortgeschritten sind diese hinsichtlich der Therapie der EOSRD (Early-Onset Severe Retinal Dystrophy), welche durch Mutationen im *RPE65*-Gen verursacht wird. Beim Morbus Stargardt hat sich die spezifische Gentherapie bereits im Tiermodell als erfolgreich erwiesen und wird derzeit in zwei klinischen Studien geprüft. Das *ABCA4*-Gen wird hierbei mittels eines lentiviralen Vektors (StarGen) übertragen. Dieser basiert auf dem Equine Infectious Anemia Virus (EIAV) und wird durch eine subretinale Injektion appliziert, um dann die retinalen Zielzellen zu transfizieren und die Exprimierung des *ABCA4*-Proteins in diesen Zellen zu ermöglichen (Carvalho & Vandenbergh 2015),(Lorenz et al. 2010).

Ein zweiter Ansatz zur Therapie des Morbus Stargardt ist die orale Gabe von deuterisiertem Vitamin A. Während die Einnahme von unverändertem Vitamin A durch eine Beschleunigung der Akkumulation von Lipofuszin und N-Retinylidene-N-Retinyethanolamin (A2E) einen negativen Einfluss auf den Krankheitsverlauf des Morbus Stargardt haben kann (Radu et al. 2008), weisen aktuell laufende Studien darauf hin, dass die orale Gabe eines biochemisch modifizierten Vitamin A-Derivats (C20-D3-Vitamin A / deuterisiertes Vitamin A) eine Verlangsamung der Krankheitsprogression bewirkt (Saad & Washington 2016),(Ma et al. 2011).

1.7 Aufgabenstellung

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist, die Morphologie der zentralen Netzhaut bei Patienten mit Mutationen im *ABCA4*-Gen durch eine Gruppeneinteilung zu systematisieren und mit Hilfe der DiOCTA-Software zu charakterisieren.

Dazu wurden 25 Patienten mit Mutationen in beiden Allelen des *ABCA4*-Gens aus der DNA-Datenbank der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Justus-Liebig-Universität Gießen ausgewählt. Das Patientenkollektiv wurde anhand der Verteilung der Fundusautofluoreszenz in drei Gruppen eingeteilt. Im Folgenden wurden die drei Gruppen anhand der morphologischen Daten der optischen Kohärenztomographie (OCT), der Fundusautofluoreszenz (FAF) und der Fundusphotographien sowie anhand von funktionellen Untersuchungen von Visus, Goldmann-Perimetrie, funduskontrollierter Perimetrie (MP1), Ganzfeld-ERG (ffERG), multifokalem ERG (mf-ERG) und Panel-D15-Farbsehtest nach Lanthony miteinander verglichen.

Weitere Aufgabe der Dissertation war es, die Morphologie der einzelnen Schichten der zentralen Netzhaut bei diesen Patienten zu beschreiben und über die Bestimmung der Läsionsgröße der fehlenden ISe-Schicht eine Korrelation mit der visuellen Funktion der Patienten zu untersuchen. Bei den 25 Patienten wurden zwischen 2008 und 2014 mittels Spectral-Domain-OCT (SD-OCT, Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg) Volumenscans der zentralen Netzhaut durchgeführt. Die OCT-Volumenscans wurden mittels der neu entwickelten Software DiOCTA (Ehnes et al. 2014) automatisch segmentiert und anschließend manuell korrigiert. Es wurden mit Hilfe der DiOCTA-Software gewonnene, morphologische Daten zu einzelnen Retinaschichten sektorbezogen und gruppenbezogen ausgewertet. Diese Daten zur Beschreibung von Netzhautmorphologie und Funktion sollen einen Beitrag zur

Bewertung der Anwendbarkeit der Gentherapie bei Patienten mit Mutationen im *ABCA4*-Gen liefern.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit anhand der vorhandenen Patientenakten und bildgebenden Befunde retrospektiv analysierten Patienten waren in der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Justus-Liebig-Universität Gießen untersucht worden. Insgesamt 25 Patienten wurden in die Untersuchung einbezogen. Diese wurden zuvor gezielt aus einem Kollektiv von Fällen hereditärer Netzhautdegenerationen ausgewählt. Einschlusskriterium war das Vorliegen von Mutationen auf beiden Allelen des *ABCA4*-Gens. Alle Patienten erhielten zwischen 2008 und 2014 eine ophthalmologische Untersuchung mit Erhebung der bestkorrigierten Sehschärfe, biomikroskopischer Untersuchung der vorderen Augenabschnitte und Untersuchung des Augenhintergrundes in medikamentöser Mydriasis. Zudem wurden ein SD-OCT-Volumenscan, Fundusphotographien, Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen bei allen 25 Patienten sowie bei der Mehrzahl der Patienten Ganzfeld-ERG (n = 23), multifokales ERG (n = 22) und Goldmann-Perimetrie (n = 22) durchgeführt. Eine funduskontrollierte Perimetrie war bei 14 Patienten durchgeführt worden.

Ausschlusskriterium war das Vorliegen einer anderen Augenerkrankung (visusrelevante Katarakt, Glaukom, diabetische Retinopathie, epiretinale Membran oder Makulaödem).

Der Zeitpunkt der Erstuntersuchung wurde als Zeitpunkt der ersten SD-OCT-Aufnahme in der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Gießen definiert. Die Erkrankungsdauer wurde ab dem Datum des Beginns der subjektiven Beschwerden bis zum Zeitpunkt der SD-OCT-Untersuchung(en) in der Klinik definiert.

Alle Untersuchungen wurden in Übereinstimmung mit den ethischen Grundsätzen der Deklaration von Helsinki aus dem Jahre 1964 durchgeführt. Ein positives Votum der Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen lag vor (Antragsnummer 142/12; 149/07).

2.2 Geräte und Methoden

2.2.1 Optische Kohärenztomographie

Die Spectral-Domain-OCT-Technik ermöglicht es, Daten zu retinalen Strukturen zu erheben und dadurch auch diskrete Veränderungen einzelner Netzhautschichten bei verschiedenartigen retinalen Degenerationen mit in die Beurteilung aufzunehmen.

Für die optische Kohärenztomographie (OCT) wurde ein Spectral-Domain-OCT (SD-OCT) verwendet (Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland). Die technischen Eigenschaften des Gerätes werden in der Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Eine Übersicht über das in der Arbeit verwendete SD-OCT-Gerät

Gerätetyp	Hersteller	Auflösung		A-Scan/s	Bild- gebung	Licht- quelle	Wellen- länge
		axial	trans- versal				
Spectralis HRA+OCT	Heidelberg Engineering	4 μm	14 μm	40.000	Scanner	SLD	870 nm

HRA: Heidelberg Retina Angiograph, OCT: optische Kohärenztomographie, SLD: Superlumineszenzdiode

Die Bilddaten mit den Größen 512 x 496, 1024 x 496 und 1536 x 496 Pixel wurden als Rohdaten in die DiOCTA-Software exportiert.

Die Netzhautschichtaufnahmen, die dieser Arbeit zu Grunde liegen, erfolgten mittels Spectral-Domain-OCT. Eine in der Universitätsaugenklinik Gießen entwickelte Software (DiOCTA) (Ehnes et al. 2014) ermöglichte die automatisierte Segmentierung der einzelnen Netzhautschichten im SD-OCT. Damit konnten die Dicken der einzelnen retinalen Schichten nicht-invasiv gemessen und im Vergleich zu Normprobanden bewertet werden, was spezifische Aussagen zur Veränderung der einzelnen Schichten bei den unterschiedlichen Formen von Netzhautdegenerationen erlaubte (Preisling et al. 2014b). Diese morphologischen Daten wurden genutzt, um in Kombination mit weiteren Daten zur Netzhautfunktion verschiedene degenerative Erkrankungen noch spezifischer zu charakterisieren (Preisling et al. 2014b).

Die 1991 erstmals beschriebene (Huang et al. 1991) und 1993 (Swanson et al. 1993) in die klinische Diagnostik eingeführte optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein

nicht invasives, hochauflösendes Verfahren zur retinalen Bildgebung, dessen Auflösung sich der histopathologischen Beurteilung einer Exzisionsbiopsie nähert und in situ und in Echtzeit eine detaillierte Beurteilung der Netzhautschichten erlaubt (Hee et al. 1995),(Drexler 1995),(Puliafito et al. 1995),(Coscas 2009). Nach der ersten Messung eindimensionaler axialer Strukturen Mitte der 80er Jahre (Fercher et al. 1988) erfolgte 1993 die Darstellung zweidimensionaler Bilder, die vom Prinzip den B-Scans aus der Ultraschalldiagnostik entsprachen. Ebenfalls 1993 erfolgten die ersten in vivo-Studien zur Darstellung der menschlichen Netzhaut (Fercher et al. 1993),(Swanson et al. 1993). In den letzten 20 Jahren wurden immer genauere Verfahren der OCT zur Darstellung der anatomischen Strukturen der Retina erarbeitet (Hee et al. 1995),(Drexler et al. 2001). Um die Korrelation zwischen tomographischer Darstellung und Histologie zu verstehen, wurden Schweine- und Affennetzhäute untersucht (Gloesmann et al. 2003),(Anger et al. 2004). Eine Zusammenfassung der Untersuchungen bei den Wirbeltieren ist bei Slijkerman und Kollegen wiederzufinden (Slijkerman et al. 2015). Im Jahr 2003 wurde erstmals die menschliche Retina mit einem hochauflösendem OCT dargestellt (Drexler et al. 2003).

Mit Hilfe dreidimensionaler ultrahochauflösender optischer Kohärenztomographie (UHR-OCT) konnten Informationen über intraretinale morphologische Veränderungen gewonnen werden, die mit keiner anderen nicht-invasiven Diagnostik zu erhalten waren (Drexler & Fujimoto 2008). Während in der Histologie Färbungen zur Herstellung des Gewebekontrastes verwendet werden, nutzt der bei der optischen Kohärenztomographie die Netzhaut abtastende Laserstrahl Unterschiede in der Reflexion der einzelnen Netzhautschichten, um diese optisch zur Darstellung zu bringen. Die Kombination mit der Weiterentwicklung adaptiver optischer Systeme (Adaptive Optics) ermöglicht dabei neuerdings in vivo-Darstellungen der Retina bis hin zu Auflösungen auf zellulärer Ebene (Drexler & Fujimoto 2008),(Carroll et al. 2013). Die optische Kohärenztomographie ist zu einem unverzichtbaren Bestandteil in der klinischen Diagnostik geworden. Sie wird eingesetzt zur Differentialdiagnostik, zur Verlaufsbeobachtung und für die Gewinnung von Erkenntnissen über die Pathophysiologie retinaler Erkrankungen. Die gewonnenen Informationen bilden auch eine wichtige Grundlage für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze. Durch die dreidimensionale Darstellung der Informationen (3D-OCT) wurde es möglich Querschnittsbilder zu generieren, die in ihrer Lokalisation Fundusauffälligkeiten exakt zugeordnet werden können. Die 3D-Volumenansichten entsprechen in ihrer Darstellungsweise vom Prinzip her der Darstellung von MRT-Bildern (Drexler & Fujimoto 2008).

2.2.1.1 Normalbefund des OCT-B-Scans und histologisches Korrelat, aktuelle internationale OCT-Nomenklatur

In OCT-Aufnahmen, wie sie in der klinischen Routine allgemein zur Verfügung stehen, werden anhand der unterschiedlichen Reflektivität üblicherweise 11 Netzhautschichten unterschieden. Diese sind in Abb. 7 A dargestellt und können entsprechend der angegebenen Beschriftung den histologischen Netzhautschichten (siehe Abb. 2) zugeordnet werden. Die automatische Netzhautschichtsegmentierung mit dem DiOCTA-Programm bezieht sich auf diese 11 Schichten. Mittlerweile stehen auch noch höher auflösende OCT-Systeme zur Verfügung, die eine noch detailliertere Differenzierung in 18 verschiedene Schichten (3-14: die sensorische Netzhaut, 15: retinales Pigmentepithel, 15-18: die Aderhaut) ermöglichen (Staurenghi et al. 2014). Um ein einheitliches Schema zur Klassifikation der Netzhaut- und Aderhautschichtung beim SD-OCT zu entwickeln, wurde 2014 auf dieser Grundlage eine international anerkannte Nomenklatur der in der SD-OCT dargestellten anatomischen Strukturen des posterioren Augensegments erarbeitet (Staurenghi et al. 2014). Die Zuordnung und Benennung der einzelnen anatomischen Strukturen ist jedoch mit der im klinischen Alltag erreichbaren Auflösung meist nicht zu leisten. Auch in der Originalpublikation gestaltete sich die eindeutige Zuordnung mancher im OCT dargestellten Strukturen zu ihrem histologischen Korrelat kontrovers (Staurenghi et al. 2014). Dies zeigt sich u.a. in Schicht Nr. 8 (siehe Abb. 7 B), der äußeren Körnerschicht und der Schicht der Henleschen Fasern. Hier wurde im hochauflösenden OCT eine subtile Abgrenzung sichtbar. Der Bereich innerhalb der Abgrenzung wurde der Henleschen Faserschicht zugeschrieben (Lujan et al. 2011). Außerdem wurde der äußere Teil (der Bereich außerhalb der Abgrenzung) der eigentlichen äußeren Körnerschicht zugeordnet. Die Henlesche Faserschicht enthält die Ansammlungen der Axone der Zapfen und die Müllerzellen, die sich in der perifovealen Region mit den Ganglienzellen verbinden. Damit stellt die Henlesche Faserschicht ein einzigartiges Merkmal der Makula dar. Das in sie eingelagerte Xanthophyll dient dem Schutz der fovealen Zapfen vor der Überexposition mit toxischem, kurzwelligem Licht. In der peripheren Retina existiert die Henlesche Schicht nicht.

Die 10. Schicht (Myoid-Zone, Abb. 7 B) entspricht dem Teil der Photorezeptoren, der im Vergleich zur Ellipsoid-Region der Photorezeptoren weniger Mitochondrien enthält und daher im OCT hyporeflektiv erscheint (Spaide 2012). Bei Zone 11, der Ellipsoid-Zone (Abb. 7 B), wurde eine Korrelation mit der mitochondrienreichen Komponente der Photorezeptoren beschrieben, die dadurch eine hohe Reflektivität zeigt (Spaide &

Curcio 2011). Zone 13 (Interdigitationszone, Abb. 7) stellt sich als äußere hyperreflektive Schicht dar, deren anatomisches Korrelat die Spitzen der Photorezeptoraußensegmente sind. Sie kann auch die Verzahnung des apikalen Teils des RPE mit dem äußeren Segment der Zapfen darstellen. Zone 14 (RPE / Bruchsche Membran-Komplex, Abb. 7 B), beinhaltet zwei hyperreflektive Schichten, das RPE und die Bruch-Membran. Diese sind unter normalen Bedingungen häufig nicht trennbar. Daher wurde diese Zone in der vorliegenden Arbeit als "RPE / Bruch-Komplex" definiert. Die Zonen 15 bis 17, innere und äußere Choroidea, stellen die Choriokapillaris und unmittelbar posterior davon kleine ovale Gefäße als Sattler-Schicht sowie die größeren äußeren ovalen Gefäße als Haller-Schicht dar. Um die Zonen 15 - 17 besser darstellen zu können, wird eine spezielle Enhanced-depth-imaging (EDI)-Software in der SD-OCT-Technik benutzt. Durch Verschiebung des Instruments näher an das untersuchte Auge wird eine invertierte Darstellung der Schichten erreicht. Dies ermöglicht eine Fokussierung der OCT-Strahls auf Höhe der Aderhaut und der inneren Sklera und liefert somit detaillierte Bilder von der Aderhaut (Spaide et al. 2008),(Spaide 2011).

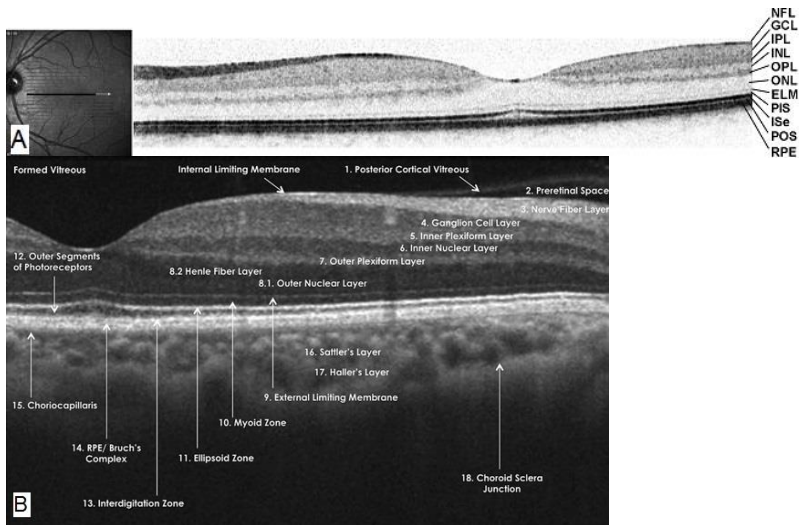


Abb. 7 Vergleich der Visualisierung der mit der SD-OCT darstellbaren Schichten des Augenhintergrundes

A) Orientierende Darstellung der Lokalisation eines B-Scans in der Infrarotdarstellung und der korrespondierenden Schichtung der gesunden Retina mit 11 dargestellten Schichten (Mit freundlicher Genehmigung von Prof. B. Lorenz). B) Maximale Schichtauflösung nach der internationalen Nomenklatur der optischen Kohärenztomographie nach Staurengi und Mitarbeitern (Staurengi, 2014) NFL: Nervenfaserschicht, GCL: Ganglienzellschicht, IPL: innere plexiforme Schicht, INL: innere Körnerschicht, OPL: äußere plexiforme Schicht, ONL: äußere Körnerschicht, ELM: Membrana limitans externa, PIS: Photorezeptorinnensegment, ISe: Innensegment-Ellipsoid, POS: Photorezeptoraußensegment, RPE: retinales Pigmentepithel

Die in dieser Arbeit durchgeführte Netzhautschichtenmessung basiert auf der Verwendung der Device Independent OCT Analysis-Software (DiOCTA), die die Möglichkeit einer automatisierten Segmentierung der humanen Retina in bis zu 11 Netzhautschichten bietet (basierend auf Studien, die hochauflösende OCT-Bilddaten mit der histologischen Darstellung der Netzhaut nach bekannten Eigenschaften der Netzhautschichten verglichen haben) (Ehnes et al. 2014),(Gloesmann et al. 2003),(Huang et al. 2005),(Coscas 2009).

Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf die von Staurengi beschriebene Nomenklatur der Netzhautschichten, allerdings (durch sinnvolle Zusammenfassung mehrerer Schichten) unter Beschränkung auf eine Differenzierung von fünf relevanten Schichten bzw. Schichtgruppen (Näheres hierzu siehe 2.2.2).

Die untersuchte Erkrankung Morbus Stargardt bewirkt eine Beeinträchtigung der Netzhautstrukturen. Die in dieser Dissertation erarbeiteten OCT-Darstellungen beziehen sich auf eine 11-schichtige Einteilung der Retina. In der vorliegenden Arbeit wurde daher auf die von Staurenghi und Mitarbeitern beschriebenen Schichten Nummer 1, 2 und 13 verzichtet. Die Schichten 8.1 und 8.2 wurden der äußeren nukleären Schicht und die Schichten 15 bis 18 der Aderhaut zugerechnet (Staurenghi et al. 2014). Eine genauere Darstellung der Aderhaut wäre prinzipiell mit einer erweiterten Funktion des verwendeten OCT-Gerätes (EDI) möglich gewesen.

2.2.1.2 Entwicklung der optischen Kohärenztomographie

Die OCT-Geräte werden derzeit in drei Systemtypen eingeteilt: Time-Domain-OCT (TD-OCT), Spectral-Domain-OCT (SD-OCT) und Swept-Source-OCT (SS-OCT) (Holmes 2009). Durch die OCT-Technik werden Querschnittsbilder des Augenhintergrundes durch Lenkung eines Laserstrahls in das Auge generiert. Auf diese Weise kann über die Verzögerung der Laufzeit des zurückgeworfenen Lichtstrahls die Reflektivität der Netzhautschichten gemessen werden. Möglich ist dies durch die unterschiedliche axiale Entfernung der verschiedenen Gewebestrukturen (Kroll et al. 2008).

Seit 1996 kamen in der OCT-Entwicklung zunächst drei Gerätegenerationen mit dem Time-Domain-Prinzip zum Einsatz (OCT 1, OCT 2, Stratus-OCT 3; jeweils von Carl Zeiss). Ein Laserstrahl, der in das Auge projiziert wird, wird mit einem zweiten Laserstrahl, welcher über einen beweglichen Referenzspiegel umgelenkt wird (und eine definierte Wegstrecke zurücklegen muss) verglichen. Das Funktionsprinzip des Time-domain-OCT beruht somit auf dem Vergleich der Laufzeiten der Strahlen, die von den Netzhautschichten reflektiert werden, mit denen, welche über den Referenzspiegel geleitet wurden (Heimann & Kellner 2010),(Kroll et al. 2008). Das OCT 1 erreichte eine axiale Auflösung von 15 μm und eine Scangeschwindigkeit von 100 A-Scans pro Sekunde (Ehnes et al. 2014). Die axiale Auflösung von OCT 3 erreichte 9 - 10 μm und eine Geschwindigkeit von 400 Scans pro Sekunde (Lim et al. 2008).

Das in dieser Arbeit verwendete OCT-Gerät gehört der vierten Generation an und detektiert mit einem (nicht beweglichen) Referenzspiegel mit Hilfe der Fourier-Transformation die Verschiebung der Laufzeiten der Lichtsignale (Genaueres zur Technik siehe 2.2.1.3). Geräte der vierten Generation erreichen eine axiale Auflösung von bis zu 3 μm (Alam et al. 2006),(Lim et al. 2008) und eine Geschwindigkeit von bis

zu 100.000 Scans pro Sekunde (Grajciar et al. 2005),(Heimann & Kellner 2010). Mit diesen Geräten ist es zum ersten Mal möglich, 3D-Aufnahmen der Retina zu generieren. Auf der Grundlage neuer Anzeigeverfahren gelingt die Darstellung von virtuellen OCT-Fundusbildern, Querschnitts-OCT-Bildern mit beliebigen Orientierungen, quantitativen Karten unterschiedlicher retinaler Schichtdicken und topographischen Parametern der Papille. Ein OCT-Fundusbild als dreidimensionale Darstellung kann direkt aus den 3D-OCT-Rohdaten generiert werden. Außerdem ist eine Analyse der Netzhautdicke bzw. Netzhautschichtdicken bezogen auf die einzelnen Quadranten des ETDRS-Grids möglich. Mit Hilfe von Thickness-Maps werden die Daten zur Dicke der Netzhaut über den gesamten C-Scan farbkodiert dargestellt (Wojtkowski et al. 2005).

2.2.1.3 Messprinzip der OCT-Systeme der vierten Generation

Man bezeichnet das Messprinzip der Geräte der vierten Generation als Frequency-Domain-, Fourier-Domain- oder Spectral-Domain-OCT. Beim Spectral-Domain-OCT (SD-OCT) wird der Laserstrahl von der Lichtquelle (einer Superlumineszenzdiode) ausgehend auf einen Splitter geführt. Der Splitter trennt den Laserstrahl in zwei Strahlenbündel. Der erste Strahl wird vom Referenzspiegel reflektiert, passiert auf dem Rückweg den Splitter ein zweites Mal und trifft als Referenzstrahl (mit definierter Laufstrecke und Laufzeit) auf einen Detektor. Der zweite Strahl, welcher vom Splitter in das Patientenauge geleitet wird, wird dort von den einzelnen Netzhautschichten reflektiert und sodann ebenfalls über den Splitter auf den Detektor gelenkt. Der Referenzspiegel ist im Gegensatz zur TD-OCT-Technik (Schuman et al. 2004) bei der SD-OCT-Technik unbeweglich. Die beiden Wellenzüge des Laserstrahls werden also im Gerät wieder zusammengeführt, sie interferieren (das heißt sie werden überlagert) und treffen anschließend auf ein Gitter oder ein Prisma. Dieses Gitter oder Prisma trennt das Gesamtsignal in seine unterschiedlichen Frequenzen auf und leitet es (sortiert nach Frequenzen) auf die Messzellen eines Detektors (CCD = charged coupled device). Es erfolgt somit eine Zerlegung des Interferogramms mittels einer Fourier-Analyse (FFT = fast Fourier transformation) und damit eine Rückrechnung der Laufzeiten der Netzhautstrahlen als Amplitudenscan mit anschließend entsprechender optischer Darstellung der Netzhautschichten (Abb. 8) (Heimann & Kellner 2010), (Wakabayashi et al. 2009),(Lang 2012).

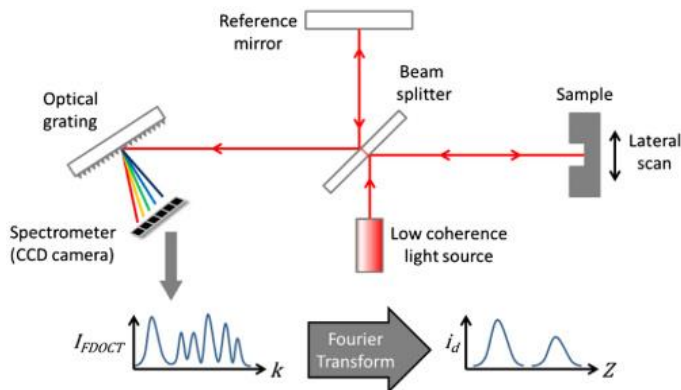


Abb. 8 Schematische Darstellung des Aufbaus und des Messprinzips des SD-OCT

(Su et al. 2014)

Vorteile der SD-OCT-Systeme gegenüber den TD-OCT-Systemen sind vor allem darin begründet, dass hier nur ortsständige Teile verwendet werden und die einzelnen Ausschläge des Detektorsignals in einem Arbeitsgang mittels des CCD-Detektors erfasst werden (Fercher 2010). Daher ist mit dieser Technik eine höhere Messgeschwindigkeit möglich (TD-OCT: 400 A-Scans/s, SD-OCT: bis 100.000 A-Scans/s) (Wojtkowski et al. 2005), (Grajciar et al. 2005) - in der hier durchgeführten Anwendung 40.000 A-Scans/s. Ferner wird im SD-OCT eine höhere Auflösung erreicht (ca. 15 μm beim TD-OCT, ca. 6 μm beim SD-OCT) (Heimann & Kellner 2010).

Eine aktuelle Weiterentwicklung der OCT-Technologie stellt das Swept-Source-OCT dar (siehe 2.2.1.5). Hierbei wird ein wellenlängenjustierbarer Laser verwendet. Mit dieser Methode ist es möglich, eine extrem schnelle und rauscharme Signalauswertung zu erreichen (Wojtkowski et al. 2012).

2.2.1.4 Visualisierung der Messergebnisse

Die eindimensionale OCT-Darstellung an einer einzelnen Netzhautstelle wird ähnlich wie bei Ultraschallverfahren als A-Scan bezeichnet (Abb. 9 A). Der Messstrahl bewegt sich nun entlang einer vorgegebenen Linie. So entsteht durch die Aneinanderreihung der einzelnen A-Scans der zweidimensionale B-Scan – vom Darstellungsprinzip her entsprechend dem B-Bild einer Ultraschallaufnahme. (Abb. 9 B). Die Amplituden des

Zeitsignals der einzelnen A-Scans sind Folge des Phänomens, dass der OCT-Messstrahl aufgrund der unterschiedlichen Reflektivität der einzelnen Netzhautschichten jeweils von diesen zurückgeworfen wird und damit nach unterschiedlichen Laufzeiten wieder das OCT-Gerät erreicht. Die aus den einzelnen A-Scans zusammengesetzten B-Scans können den Schichten eines histologischen Schnittes zugeordnet werden. Eine hohe Reflektivität, wie sie zum Beispiel an der Netzhautoberfläche und im RPE anzutreffen ist, wird rot kodiert. Signale mit einer geringeren Reflektivität, wie Aderhaut oder verschiedene Schichten innerhalb der Netzhaut, werden grün dargestellt. Signale ohne Reflexion werden schwarz kodiert, wie zum Beispiel der Glaskörper. Erfolgt eine Graukodierung, wird üblicherweise die stärkste Reflexion in schwarz dargestellt, die geringste in weiß. Die Möglichkeit einer inversen Graukodierung ist ebenso gegeben.

Ein entscheidender Vorteil der SD-OCT-Technik ist die schnellere Abfolge der A-Scans während der Messung. Hierdurch können Bewegungsartefakte bei den B-Scans reduziert werden. Werden mehr A-Scans pro B-Scan durchgeführt, kann eine höhere Auflösung erreicht werden (Coscas 2009),(Heimann & Kellner 2010). Kombiniert man parallel angeordnete B-Scans, kann aus diesen ein Volumenscan (3D-Scan) generiert werden (Abb. 9 C). Solche Scans lassen eine schnelle orientierende Analyse vitrealer und retinaler Veränderungen in räumlichem Bezug zu. Bei längerer Messdauer ist eine geringere Auflösung zu erwarten. Zum Erreichen einer höheren Auflösung zur Darstellung von Details an einem oder mehreren relevanten Orten sind Einzelscans mit höherer Auflösung sinnvoll. Auch eine horizontale Darstellung der Netzhautstrukturen ist möglich; diese Informationen werden aus einem Volumenscan berechnet (Heimann & Kellner 2010).

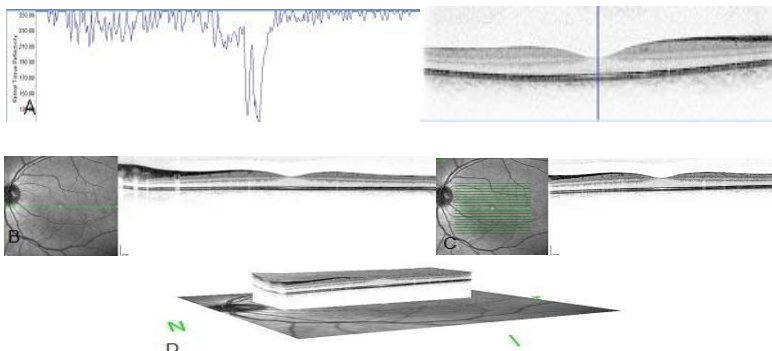


Abb. 9 SD-OCT A-Scan-, B-Scan-, C-Scan, 3D-Scandarstellungen eines gesunden Probanden

A) A-Scan durch die Fovea, erstellt mit DiOCTA-Technik (Ehnes et al. 2014), B) B-Einzelscan, C) B-Scan als Teil eines Volumenscans, D) Darstellung eines Volumenscans (3D-Scans).
B – D Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

2.2.1.5 Methoden zur Verbesserung der Bildqualität

Die SD-OCT-Geräte verfügen über eine B-Scan-Mittelung. Das heißt, es können mehrere B-Scans einer Netzhautstelle überlagert werden. Dies ermöglicht eine höhere Auflösung. Um Bewegungsartefakte auszugleichen, erfolgt eine aktive Nachführung des Messstrahls durch einen Eyetracker (Fundus-SLO-Tracking anhand eines Fundusbildes). Durch diese Techniken kann eine Verringerung des Signalrauschens sowie eine axiale Auflösung bis zu 3 μm und eine laterale Auflösung von 6 μm erreicht werden. Der Eyetracker ermöglicht es auch, im Rahmen von Verlaufskontrollen eines Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten jeweils exakt am gleichen Netzhautort zu messen, wodurch eine bessere Vergleichbarkeit der Veränderungen (Krankheitsprogress, Therapieerfolg) im zeitlichen Verlauf gewährleistet ist (Heimann & Kellner 2010),(Pappuru et al. 2011). Der betreffende Scan kann bei der Erstuntersuchung als Referenz markiert werden, sodass bei der nächsten Visite der Scan automatisch an die gleiche Stelle platziert wird. Der direkte Vergleich von Fundusbild und OCT oder Fluoreszeinangiographie und OCT verbessert die Auswertung.

In dieser Arbeit wurden alle OCT-Darstellungen mit SD-HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg) im ART-Modus (ART = Automated real time, automatische Mittelung mehrerer Bilder) durchgeführt. Bei der SD-OCT-Technik sind Flächenreliefs

(Thickness-Maps) mit unterschiedlichen Parametern erstellbar. Eine Möglichkeit, quantifizierbare Größen zu ermitteln (z. B. die Dicke der unterschiedlichen retinalen Schichten), besteht in der segmentbezogenen Darstellung des ETDRS-Gitters (Heimann & Kellner 2010) (siehe Abb. 10).

In jüngster Zeit wurden zwei weitere erwähnenswerte Techniken entwickelt: Swept-Source-OCT und OCT-Angiographie.

Während beim SD-OCT das Frequenzspektrum des ausgesendeten Lichtes breitbandig ist – das heißt zu jedem Messzeitpunkt das gesamte Spektrum ausgesandt wird – erfolgt beim Swept-Source-OCT (SS-OCT) zu einem distinkten Zeitpunkt nur die Aussendung einer Frequenz, welche jedoch im Zeitverlauf extrem schnell variiert wird. Somit besteht keine Notwendigkeit zum Einsatz eines Mehrzeilendetektors (wie beim SD-OCT), sondern es ist ein Einzeldetektor ausreichend. Hierdurch sind sehr hohe A-Scan-Raten von mehreren Megahertz (200.000 A-Scans/s) möglich. Dieses Verfahren erlaubt die aktuell höchsten Aufnahmegeschwindigkeiten (Spaide 2014),(Reznicek et al. 2014).

Eine weitere innovative Methode stellt die OCT-Angiographie dar. Bei der OCT-Angiographie werden mittels eines Algorithmus (Split-Spectrum-Amplitude-Decorrelation-Angiography (SSADA)-Algorithmus) Gefäße (mit bewegter Blutsäule) von statischem Gewebe unterschieden. Hierzu ist ein SS-OCT-Gerät erforderlich. Dieses arbeitet mit einer Wellenlänge von 1.050 nm und hat eine axiale Scangeschwindigkeit von 100 kHz. Durch den Vergleich der Signalamplitude zeitlich aufeinanderfolgender B-Scans desselben Ortes stellt man einen Kontrast zwischen statischem und nicht-statischem Gewebe dar. So wird der Blutfluss in Form eines Angiogramms visualisiert. Es können mittels En-Face-Projektion im Angiogramm retinale und chorioidale Gefäße gezeigt werden (Moul et al. 2014). Anwendung kann diese Technik unter anderem bei Patienten mit chorioretinaler Neovaskularisation (CNV) bei exsudativer altersbedingter Makuladegeneration als nichtinvasive Verlaufskontrolle finden (Moul et al. 2014).

Die Verfahren der adaptiven Optiken, welche ebenfalls der Verbesserung der Bildqualität dienen und die OCT-Daten ergänzen, stellen eine Technologie dar, die der Astronomie entlehnt wurde. Die natürlichen Wellenfrontfehler des Auges werden hierbei soweit ausgeglichen, dass die laterale Auflösung lediglich noch durch die Beugung des Lichtes begrenzt wird. Durch Einbringen einer speziell geformten Spiegeloberfläche in den Strahlengang wird eine derartige Voraberration der in das Auge einfallenden Strahlen erzeugt, dass die komplexen Wellenfrontfehler der

optischen Medien hierbei in der Summe ausgeglichen werden. Hierdurch gelingt eine extrem hohe Auflösung bis hin zur Darstellung einzelner Zapfen und Stäbchen. Somit werden bisher unzugängliche mikroskopische Strukturen wie Kapillaren, Feinheiten der Ganglienzellschicht und RPE-Zellen sichtbar gemacht (Scoles et al. 2014),(Harmening 2014).

2.2.2 Device Independent OCT Analysis (DiOCTA)

Für die Segmentierung der Netzhautschichten wurde in der vorliegenden Arbeit ein in der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Justus-Liebig-Universität Gießen entwickeltes Auswertungsprogramm zur automatisierten Segmentierung der einzelnen in OCT-Scans darstellbaren Netzhautschichten angewendet (Ehnes et al. 2014).

Die mit dem SD-OCT gewonnenen Volumenscans der Patienten wurden exportiert und mittels der DiOCTA-Software bearbeitet. Die automatischen Segmentierungen der B-Scans wurden als Konturen der einzelnen Netzhautschichten dargestellt und manuell korrigiert. Die manuelle Korrektur erfolgte in den Bereichen, in denen die Schichten nicht deutlich durch den Auswertungsalgorithmus zu differenzieren waren.

Die darstellbaren Schichtsegmentierungen im B-Scan wurden über die C-Scans in der Fläche ausgewertet und mit der Thickness-Map-Anwendung von DiOCTA als lokale Schichtdicke in der Fläche und in Form des Auswertenetzes der Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) als Mittelwert des Auswertefeldes dargestellt.

Die Thickness-Map-Software erlaubt die Darstellung von Schichtdicken, gemessen an einem Volumenscan. Die Berechnung der Netzhautdicke erfolgt durch Interpolation der aufgenommenen B-Scans. Die Netzhautdicke wird anschließend farbkodiert auf ein Fundusbild projiziert dargestellt. Mit dieser Software ist es möglich, nicht nur die Gesamtdicke der Netzhaut, sondern auch die Dicke der einzelnen segmentierten Schichten darzustellen (Ehnes et al. 2014).

Das ETDRS-Grid zur Analyse der Thickness-Map basiert auf der Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Dieses besteht aus drei konzentrischen Kreisen mit einem Durchmesser von 1 mm, 3 mm und 6 mm. Der zentrale Kreis repräsentiert die Fovea. Die äußeren beiden Kreise gliedern sich jeweils in vier Sektoren (temporal, superior, nasal und inferior) (Abb. 10).

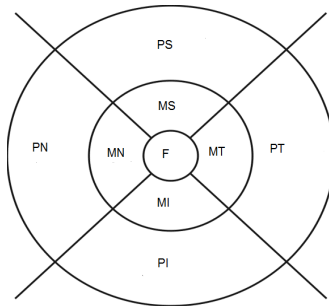


Abb. 10 ETDRS Grid

F: Fovea, MS: makulär superior, MT: makulär temporal, MI: makulär inferior, MN: makulär nasal, PS: peripher superior, PT: peripher temporal, PI: peripher inferior, PN: peripher nasal

Mit Hilfe dieser Unterteilung in neun ETDRS-Grid-Sektoren können Netzhautareale sektorbezogen vermessen sowie die mittleren Schichtdicken in diesen Sektoren auf Basis der Schichtsegmentierung berechnet werden.

Der in DiOCTA angewandte Algorithmus ist in der Lage, bis zu 11 Netzhautschichten innerhalb eines Spectralis-OCT-B-Scans zu segmentieren.

Im Gegensatz zur gesunden Netzhaut besteht je nach Erkrankung und deren Ausprägung eine veränderte Dicke der gesamten Netzhaut bzw. einzelner Netzhautschichten. Aufgrund des stark veränderten Reflexionsverhaltens durch die teils massiven Umorganisationen der einzelnen Schichten bei verschiedenen Netzhautdystrophien ist eine eindeutige Schichtenzuordnung oft nicht mehr möglich. Wie in der Arbeit von Ehnes und Kollegen (Ehnes et al. 2014) vorgeschlagen, wurden (aufgrund der Zerstörung der Netzhautarchitektur bei Morbus Stargardt und anderen retinalen Dystrophien) für diese Arbeit soweit möglich 5 Schichtgruppen bzw. Schichten segmentiert.

Die Dicke von zwei einzelnen Schichten (NFL, RPE), von drei Schichtgruppen (GCL+IPL, INL+OPL+ONL+OLM+IS und ISe+OS) sowie der gesamten Netzhaut wurden automatisiert bestimmt und manuell nachkorrigiert.

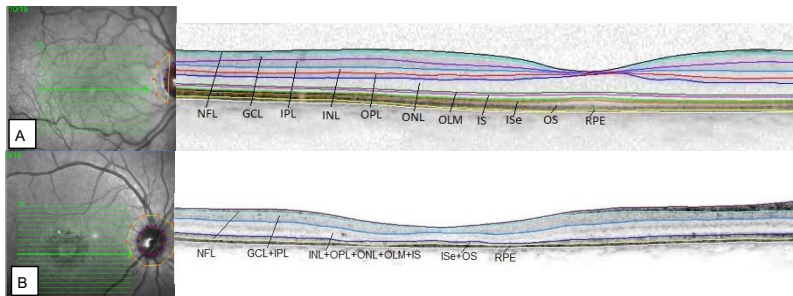


Abb. 11 Ein SD-OCT- Volumenscan der Netzhaut

A) Mit Hilfe der DiOCTA-Software automatisch segmentierte 11 Retinaschichten eines gesunden Probanden. B) Mit der gleichen Software segmentierte 5 Retinaschichten eines Patienten mit einer Netzhautdegeneration aufgrund Mutationen im ABCA4-Gen. NFL: Nervenfaserschicht, GCL: Ganglienzellschicht, IPL: innere plexiforme Schicht, INL: innere Körnerschicht, OPL, äußere plexiforme Schicht, ONL: äußere Körnerschicht, OLM: Membrana limitans externa, IS: Photorezeptorinnensegmente, ISe: Innensegment Ellipsoid, OS: Photorezeptoraußensegment, RPE: retinales Pigmentepithel

Der Arbeitsablauf mit der DiOCTA-Software gliederte sich in drei Arbeitsschritte: Segmentierung, manuelle Korrektur und Platzierung des ETDRS-Grids um die Fovea. Die DiOCTA-Software berechnete daraufhin die Dicke der zuvor segmentierten Schichten der Retina in jedem Sektor des ETDRS-Grids.

Im Laufe der manuellen Korrektur zeigten sich bei der überwiegenden Zahl der ausgewerteten C-Scans hyperreflektive Punkte, die nah an der RPE-Schicht lagen. Die hyperreflektiven Stellen (RPE-Migration) wurden entsprechend mit in die Berechnung der RPE-Schichtdicke aufgenommen (Abb. 12). Eine alternative Deutungsmöglichkeit der beschriebenen hyperreflektiven Strukturen ist deren Interpretation als Ansammlungen von Mikrogliazellen. Die Rolle dieser phagozytierenden Zellen im Rahmen von Netzhautdegenerationen wird in der Literatur diskutiert (Karlstetter & Langmann 2014).

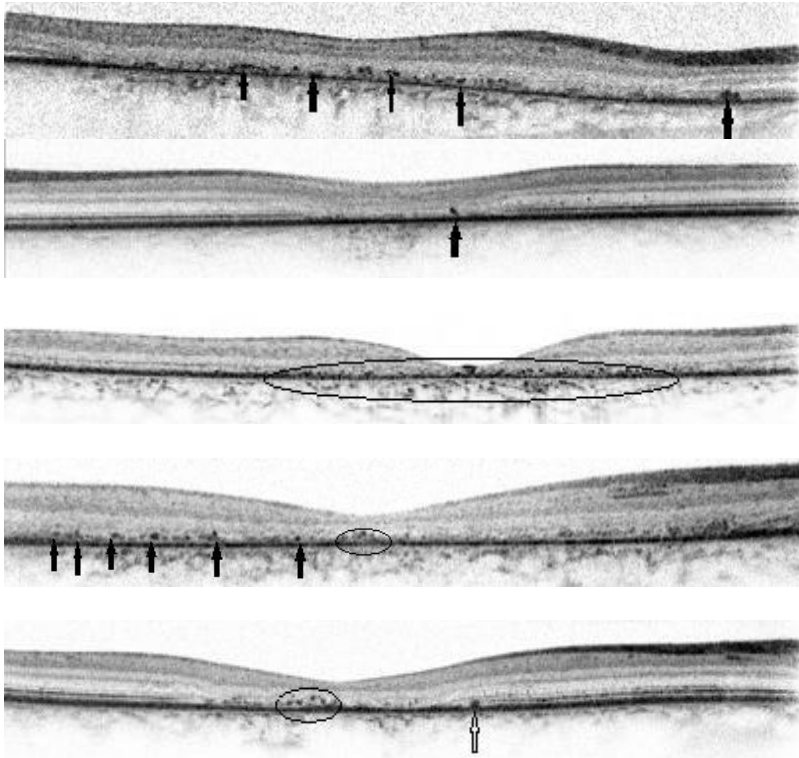


Abb. 12 Hyperreflektive Stellen in der RPE-Schicht der Netzhäute bei ausgewählten Patienten

Die Pfeile und die Kreise zeigen die Stellen, wo besonders deutlich die hyperreflektiven Stellen zum Vorschein kommen, welche als RPE-Migration interpretiert wurden. OCT B-Scans, Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

2.2.3 Visusprüfung

Die Sehschärfeprüfung erfolgte mit Hilfe Sehzeichenprojektoren oder Sehprobentafeln. Die Prüfung des Fernvisus wurde in fünf Metern Distanz durchgeführt. Die Geräte projizieren Landolt-Ringe, Snellen-Haken, Zahlen und Buchstaben. Lag der Visus unterhalb des Bereichs der Projektionsmöglichkeiten, wurde in mittlerer oder Nahdistanz mit Sehprobentafel geprüft. Als Sehzeichen wurden Landolt-Ringe oder Zahlen benutzt. Ein Teil der Patienten wurde mit dem C-Test nach Haase und

Hohmann, der den Landolt-Ring in 4 geraden Ausrichtungen enthält, untersucht. Der Optotypenabstand betrug 17,2' oder 2,6'. Die Sehschärfe wurde unter photopischen Bedingungen bei Raumbeleuchtung bestimmt. Es wurde die Forced-Choice-Strategie (erzwungene Wahl) angewendet. Diese Strategie bedeutet, dass jedes Sehzeichen benannt werden muss. Die richtigen Antworten stellen im Schwellenbereich eine Kombination aus Erkennen und Raten dar (Gräf 2007). Es wurde nach dem Kriterium 3/5 nachgegangen. Das bedeutet, dass das Minimum der korrekt erkannten Sehzeichen drei von fünf angebotenen betragen musste, um die Visusstufe als „erkannt“ zu definieren. Bei einer Sehschärfe von Handbewegung oder Fingerzählen wurde die vom Schulze-Bonsel und Kollegen vorgeschlagene Umrechnungsstrategie eingesetzt (Schulze-Bonsel et al. 2006). Die Dokumentation der Sehschärfe erfolgte als Dezimalbruch des bestkorrigierten Visus (BCVA = best corrected visual acuity). Zum besseren Vergleich mit den Daten aus der Literatur wurde dieser in den negativen dekadischen Logarithmus des „Minimum Angle of Resolution“ (logMAR) umgerechnet. Das Vorgehen richtete sich nach den Empfehlungen vom Becker und Gräf (Becker & Gräf 2004).

Die Fähigkeit, Details der Außenwelt aufgrund ihrer Größe und Lagebeziehung visuell wahrzunehmen, ist die Sehschärfe. Die Bezeichnung der Sehschärfe erfolgt als Kehrwert des kleinsten Sehwinkels in Winkelminuten, unter dem der jeweilige Reiz gerade noch erkannt wird. Man gibt üblicherweise den Visus als Dezimalbruch an. Der dekadische Logarithmus des Minimum separabile, der logMAR, steht zwar in einem festen Zusammenhang zur Sehschärfe, ist aber kein Sehschärfewert. Die Sehschärfe wird nämlich aus dem Kehrwert des Minimum separabile errechnet. Reziprok verhält sich die Auflösungssehschärfe zum Minimum separabile: $\text{Sehschärfe} = 1/10^{\log \text{Mar}} = 10^{-\log \text{MAR}}$ (Kroll et al. 2008).

2.2.4 Bildgebende Verfahren

2.2.4.1 Fundusphotographie

Der Augenhintergrund und die Makularegion wurden mit einer Funduskamera FF 450 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) fotografiert. Die Funduskamera verfügt über 3 Bildwinkel, die stufenweise umschaltbar sind. Bei kleinerem Bildwinkel wird eine deutlich höhere Auflösung ermöglicht: 50°, 30°, 20°, entsprechend einer Vergrößerung von 11x, 19x, 30x.

2.2.4.2 Fundusautofluoreszenz

Die Untersuchung wurde in medikamentöser Mydriasis durchgeführt. Zunächst wurde im Infrarot-Modus das Netzhautbild fokussiert und ein Infrarotbild angefertigt. Anschließend wurden Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen durchgeführt. Beide Aufnahmen wurden mit einem Spectralis HRA+OCT Gerät (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) ausgeführt. Die Anregungswellenlänge betrug 488 nm. Es wurden in einem Serienmodus mehrere Bilder angefertigt. Mit Hilfe einer Heidelberg Eye Explorer-Software wurde aus diesen automatisch ein Bild gemittelt. Dies erfolgte für Aufnahmen der zentralen 30° sowie 50° des Fundus.

Als Fundusautofluoreszenz (FAF)-Aufzeichnung bezeichnet man ein nicht invasives Verfahren (ohne Verwendung eines externen Farbstoffs) zur Untersuchung des Funktionszustandes des RPE (F. C. Delori et al. 1995). Es bildet die Verteilung des Abbauproduktes Lipofuszin in den RPE-Zellen ab. Das Nahinfrarotbild zeigt dagegen die Verteilung des Melanins. Von Autofluoreszenz spricht man, wenn eine Substanz bei Anregung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge Licht einer anderen, längeren Wellenlänge emittiert (Theelen et al. 2008). Für Lipofuszin gilt das bei einer Anregung mit Licht der Wellenlänge von 480 - 510 nm (Emissionsmaximum bei 600 - 640 nm) (Theelen et al. 2008),(Heimann & Kellner 2010),(Bindewald et al. 2005),(Schmitz-Valckenberg et al. 2008).

In-vivo-FAF-Aufnahmen werden unter anderem mittels konfokalem Scanning-Laser-Ophthalmoskop (Spectralis-HRA, Heidelberg Engineering, Heidelberg) durchgeführt. Das Bild entsteht durch die unterschiedliche Verteilung der jeweiligen Fluorophore (Delori et al. 2011),(Heimann & Kellner 2010). Eine normale FAF-Darstellung ist durch eine abwesende Autofluoreszenz aufgrund nicht vorhandenem RPE im Bereich des Sehnervs sowie eine Überlagerung mit retinalen Gefäßen charakterisiert (F C Delori et al. 1995). Das zentral erniedrigte Fluoreszenzsignal wird aufgrund der Absorption durch Lutein und Zeaxanthin in der Makula verursacht (F C Delori et al. 1995) (Übersicht bei: Fleckstein et al. 2008).

Bei Patienten mit Morbus Stargardt zeigen sich Flecken erhöhter (übermäßige Ansammlung von Lipofuszin) und verminderter FAF (Atrophie des RPE und dadurch Fehlen des Lipofuszins) bereits in retinalen Arealen, die funduskopisch normal erscheinen (Greenstein et al. 2015),(Lois et al. 2004),(Gerth et al. 2002),(Burke et al. 2014). Auch die Überladung der Pigmentepithelzellen mit Lipofuszingranula und sekundäre Alterationen im Bereich des RPE sind zu erkennen. Ca. 4 – 5° um die Fovea herum zeigt sich oft ein Ring erhöhter Autofluoreszenz.

Augen mit AMD weisen unterschiedliche Veränderungen der FAF auf. Im Bereich fokaler Hyperpigmentierungen zeigt sich häufig eine erhöhte FAF; die FAF von Drusen ist nicht einheitlich. Bereiche mit geographischer Atrophie sind durch eine stark verminderte bis fehlende FAF charakterisiert, da dort kein RPE – und somit auch kein Lipofuszin – mehr vorhanden ist. (Kroll et al. 2008).

2.2.5 Elektrophysiologische Untersuchungen

2.2.5.1 Ganzfeld-Elektroretinogramm

Das Ganzfeld-ERG wurde mit dem Espion E (Diagnosys, Lowell, USA, 1998-2012) bzw. mit dem Spirit (Nicolet, Madison, Wisconsin) abgeleitet. Die Untersuchung wurde bei 24 Patienten (96%) durchgeführt. Die Ableitungen wurden entsprechend des Standards der International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) angefertigt (McCulloch et al. 2015).

Bei der Ableitung wurde zunächst das dunkeladaptierte (skotopische) Blitz-ERG gemessen. Bei niedrigen Reizleuchtdichten entspricht dies der Funktion der Stäbchen und ihrer nachgeschalteten Bipolarzellen. Nehmen die Leuchtdichten im dunkeladaptierten Zustand zu, bekommt man gemischte Antworten des Stäbchen- und Zapfensystems. Die Zapfenfunktion wird mit Hilfe der Messung des helladaptierten (photopischen) ERGs mit Einzelblitzen und Flimmerlicht durchgeführt. Die Lichtreize werden in einem halbkugelförmigen Ganzfeld abgespielt. Die Netzhautantworten werden als elektrische Aktivität über eine Hornhaut-Elektrode abgeleitet. Als Signalantwort auf einen Einzelblitz werden im ERG die a-Welle und die b-Welle erfasst (Bach & Kellner 2000). Die a-Welle entspricht der Photorezeptorenfunktion. Die b-Welle zeigt die Aktivität der Bipolarzellen sowie indirekt die Photorezeptorenfunktion. Die oszillatorischen Potentiale (innerhalb des aufsteigenden Teils der b-Welle) entsprechen den Antworten der inneren plexiformen Schicht. Zapfenspezifische Antworten können auch durch Flimmerlicht (Frequenz 30 Hz) isoliert werden. Das Stäbchensystem kann diesen hohen Frequenzen nicht folgen (Übersicht bei: Apfelstedt-Sylla et al. 2003).

2.2.5.2 Multifokales Elektroretinogramm

Das multifokale Elektroretinogramm (mf-ERG) wurde bei 22 Patienten (88%) durchgeführt. Es wurde mit dem VERIS Science, Version 5.1 (EDI-Electro-Diagnostic-

Imaging Inc., Redwoodcity, USA) abgeleitet. Die Ableitung des mf-ERG entsprach (wie beim Ganzfeld-ERG) den Standards der International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) (Hood et al. 2012). Es wurden 61 oder 103 Teilfelder eingesetzt. Die Stimulushelligkeit betrug 200 cd/m² mit einem Kontrast von 99,5%.

Die Ableitung erfolgte bei medikamentöser Mydriasis nach einer ca. 15-minütigen Adaptation des Patienten. Hierbei wurden drei Elektroden verwendet: die aktive Elektrode mit Kontakt zur Kornea oder bulbären Konjunktiva, eine Referenzelektrode und eine Erdungselektrode. Der Patient wurde in bequemer Haltung vor dem Gerät positioniert und aufgefordert, auf die Mitte des Bildschirms zu schauen. Die Ableitung wurde unter photopischen Bedingungen durchgeführt, wobei die Dauer der Untersuchung je nach Anzahl der abgeleiteten Elemente (61 oder 103) zwischen vier und acht Minuten variierte.

Das multifokale ERG, welches von Sutter und Tran entwickelt wurde, dient zur elektrophysiologischen Untersuchung der zentralen 25-30° des Fundus. Hierbei wird dem Patienten auf einem Monitor ein Muster aus aneinandergrenzenden hexagonalen Flächen dargeboten, welche in einer pseudorandomisierten Reihenfolge zwischen Schwarz und Weiß abwechseln. Dabei werden ständig die erzeugten Summenpotentiale (der gesamten Fläche) abgeleitet und aus diesen per Kreuzkorrelation die Antworten der einzelnen Hexagone zurückgerechnet. Zur Abbildung der Ergebnisse stehen neben der Darstellung der Einzelantworten („trace array“) dreidimensionale und farbkodierte Darstellungen der Antwortdichte zur Verfügung. Gemäß der Nomenklatur der Ausschläge der mf-ERG-Kurve benennt man die beiden negativen Peaks mit N1 und N2 und den dazwischenliegenden positiven Peak mit P1 (Kroll et al. 2008),(Übersicht bei: Apfelstedt-Sylla 2003).

Mit dem multifokalen Elektroretinogramm (mf-ERG) ist es möglich, die zentralen 25 - 30° des Fundus zu untersuchen. Das Ganzfeld-Elektroretinogramm (Gf-ERG) (siehe 2.2.5.1) misst hingegen die Stäbchenantworten, Kombinationsantworten (Stäbchen- und Zapfenantworten) sowie Zapfeneinzel- und Zapfenflimmerantworten der gesamten Netzhaut. Umschriebene, kleinflächige Retinaläsionen fallen daher in einem Ganzfeld-ERG nicht auf. Das Ganzfeld-ERG ermöglicht die Differenzierung zwischen Zapfen-, Stäbchen- und Zapfen-Stäbchen-Dystrophien, indem nicht nur die zapfenabhängigen Reizantworten bei Helladaptation, sondern auch die stäbchenabhängigen Reizantworten bei Dunkeladaptation gemessen werden (Kellner & Kellner 2009).

Dem multifokalen ERG kommt im Rahmen der Diagnostik von Makuladystrophien (wie dem Morbus Stargardt) große Bedeutung zu. Insbesondere in Kombination mit dem Ganzfeld-ERG erlaubt es eine Abgrenzung lokalisierter Prozesse (wie bei Makuladystrophien) von generalisierten Netzhauterkrankungen (welche die gesamte Netzhaut betreffen): Während das multifokale ERG bereits im Anfangsstadium einer Makuladystrophie pathologisch ausfällt, kann das zapfenspezifische Ganzfeld-ERG (zumindest im Frühstadium) noch unauffällig sein. In solchen frühen Stadien einer Makuladystrophie kann (bei bereits eingetretener subjektiver Visusminderung) auch funduskopisch noch ein weitgehend unauffälliger Befund bestehen (Übersicht bei: Apfelstedt-Sylla 2003),(Bach & Kellner 2000),(Übersicht bei: Rütger 2008).

2.2.6 Perimetrie

2.2.6.1 Goldmann-Perimetrie

Die Untersuchung des Gesichtsfeldes mit dem Goldmann-Perimeter wurde bei 22 Patienten (88%) durchgeführt. Zur Bestimmung der Außengrenzen wurde ein 4 mm² großer weißer Lichtreiz mit 100% relativer Lichtintensität angewendet. Zum zentralen Gesichtsfeld hin wurden Lichtreiz und Objektgröße entsprechend abgeschwächt (III4e, I4e, I3e, I2e, I1e). Skotome wurden schraffiert dargestellt. Es wurden allerdings (je nach Ausprägungsgrad der Erkrankung) nicht bei jedem der untersuchten Patienten alle o.g. Lichtmarken dargestellt.

Als Gesichtsfeld wird die Summe aller visuellen Sinneseindrücke, die unter Fixation eines Objektes ohne Kopf- und Oberkörperbewegungen wahrgenommen werden, bezeichnet. Normalerweise wird als Maßeinheit der Gesichtsfeldfunktion die Lichtunterschieds-Empfindlichkeit (LUE) eingesetzt. Orte gleicher LUE werden durch sog. Isopteren verbunden, die kartographischen Höhenlinien ähnlich sind (Kroll et al. 2008).

2.2.6.2 Mikroperimetrie (= funduskontrollierte Perimetrie)

Für die Untersuchung des zentralen Gesichtsfeldes wurde die Mikroperimetrie bei 14 Patienten (56%) durchgeführt. Es wurde das Mikroperimeter 1 (MP1) (Nidek Technologies, Padua, Italien) benutzt. Es wurde die 4-2-Strategie mit den Marken

Goldmann I, III oder V als Stimulus benutzt. Als Fixierziel wurde ein Kreuz dargeboten und das Testmuster „Makula 20°“ (10 dB) angewendet.

Das MP1 erlaubt eine funduskontrollierte statische und kinetische Perimetrie des zentralen Gesichtsfelds. Die Stimuli werden mit Hilfe eines LCD-Displays auf die Netzhaut projiziert. Zeitgleich wird eine automatische Fundusabbildung mit einer Infrarotkamera aufgenommen. Das MP1 erlaubt bei enger Pupille einen Fundusüberblick von 45°. Das perimetrische Ergebnis wird dem zusätzlich aufgenommenen farbigen Fundusbild überlagert. Die Augenbewegungen werden während der gesamten perimetrischen Untersuchung von einem automatischen Eye-Tracking-System registriert. Markante Fundusstellen nutzt man als Definition des Referenzfeldes. Der Stimulus kann in der Größe (Goldmann I bis V), der Farbe (Weiß oder Rot) und der Projektionsdauer (100 ms bis 1.000 ms, Standardwert 200 ms) eingestellt werden.

2.2.7 Farnsworth-Panel-D15-Test/ Lanthony-Panel-D15-desaturiert Test

Das Farbsehvermögen wurde bei 20 Patienten (80%) mittels Panel-D15-Test (saturiert oder desaturiert) evaluiert.

Die Farnsworth-Panel-D15-Tafeln enthalten 15 Prüfmarken. Es wurden helligkeits- und sättigungsgleiche Munsell-Farbproben verwendet (Kroll et al. 2008). Der Test wurde in einem Betrachtungsabstand von 33 cm unter optimaler Beleuchtung von 200-250 lux empfohlen. Der Lanthony-Panel-D15-Test wurde 1973 von Lanthony entwickelt und stellt eine entsättigte Version des gesättigten Tests dar. Der Untersuchungsgang und die Auswertung waren analog dem Farnsworth-Panel-D15-Test (Kroll et al. 2008). Bei den Patienten, bei denen ein desaturierter Farbsehtest nicht (mehr) möglich war, wurde der saturierte Test durchgeführt.

2.2.8 Stammbaumerhebung

Die Patientenakten wurden systematisch analysiert und die relevanten, über Jahre hinweg erhobenen klinischen Daten tabellarisch erfasst. Die genaue Familienanamnese wurde während der Vorstellung entweder in der Sprechstunde für Kinderaugenheilkunde und genetische Augenerkrankungen oder in der allgemeinen Poliklinik des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Gießen erhoben.

3 Ergebnisse

3.1 Zusammensetzung des Patientenkollektivs

In dieser Studie wurden 25 Patienten mit hereditären Netzhautdystrophien aufgrund von biallelischen Mutationen im *ABCA4*-Gen ausgewertet.

Die 25 Patienten erhielten zwischen 2008 und 2014 SD-OCT-Volumenscan-Untersuchungen der zentralen Netzhaut sowie eine augenärztliche Untersuchung mit Bestimmung der Refraktion und des Visus sowie einer Dokumentation des vorderen Augenabschnitts und des Fundus in medikamentöser Mydriasis. Die Daten wurden durch Fundusphotographien, Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen, Ganzfeld-Elektroretinogramm, multifokales Elektroretinogramm sowie Goldmann-Perimetrie, funduskontrollierte Perimetrie und Farbsehtests erweitert. Subjektive Beschwerden der Patienten wie Photophobie oder Nachtsehtörungen wurden dokumentiert.

Die 25 Patienten stammten aus 21 Familien: 17 Familien mit jeweils einem Betroffenen, zwei Mutter-Kind-Paare und zwei Geschwister-Paare.

Das Alter der Patienten bei der Erstuntersuchung (definiert als Zeitpunkt der ersten SD-OCT-Untersuchung in der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Gießen) lag im Mittel bei 26,2 Jahren (Median 25; SD 15,2; 7 - 62 Jahre). Von den 25 Patienten waren 15 (60%) Frauen und 10 (40%) Männer. Das Alter des subjektiven Erkrankungsbeginns (definiert als Zeitpunkt der ersten subjektiven Beschwerden) war bei 22 Patienten eruiert und lag im Mittel bei 16,8 Jahren (Median 14; SD 11,32; 7 - 52 Jahre). Die Dauer der Erkrankung zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung lag bei diesen 22 Patienten im Mittel bei 7,3 Jahren (Median 6,5; SD 6,85; 0 - 23 Jahre).

Der Visus in der vorliegenden Arbeit ($n = 25$ Patienten) betrug zum Zeitpunkt der ersten SD-OCT-Aufnahme in der Klinik bei 24% der Patienten ($n = 6$) $\geq 0,5$ (jeweils auf mindestens einem Auge), bei 20% der Patienten ($n = 5$) 0,2 bis 0,4, bei 52% der Patienten ($n = 13$) 0,05 bis 0,1 und bei 4% der Patienten ($n = 1$) $< 0,05$. Diese Häufigkeitsverteilung ist im Wesentlichen vergleichbar mit der bisher in der Literatur beschriebenen: $\geq 0,5$ bei 23%, 0,2 - 0,4 bei 18%, 0,05 - 0,1 bei 55%, $< 0,05$ bei 4%, $n = 361$ Patienten (Rotenstreich et al. 2003) bzw. $\geq 0,5$ bei 25%, 0,05 - 0,1 bei 50% (Traboulsi 2012) bzw. $\geq 0,5$ bei 26%, $n = 61$ Patienten (Lois et al. 2001). Lediglich der

Anteil der Patienten mit einem Visus von $\leq 0,1$ war in der vorliegenden Arbeit mit 48% etwas höher als in anderen Studien. So fanden Lois et al. einen Visus $\geq 0,5$ bei 26%, $>0,1$ und $\leq 0,4$ bei 55%, $\leq 0,1$ bei 18% bei $n = 61$ Patienten) (Lois et al. 2001). Dies könnte darin begründet sein, dass im Gegensatz zu anderen Arbeiten in die vorliegende alle Patienten mit *ABCA4*-Gen-Mutationen (und nicht nur solche mit klassischem Morbus Stargardt) eingeschlossen wurden.

3.2 Patientenkohorte

Anhand der Verteilung der Fundusautofluoreszenz wurden drei Patientengruppen gebildet. Diese Gruppeneinteilung orientiert sich an der Arbeit von Fishman und Mitarbeitern (Fishman et al. 1999), die eine Einteilung nach der Ausprägung der Veränderungen, die in der Ophthalmoskopie, in der Fluoreszeinangiographie und im ERG gesehen wurden, durchführten. Zusätzlich wurde eine Einteilung verwendet, die sich nach dem ERG richtete (Lois et al. 2001). (Kategorie I: Patienten mit unauffälliger Ganzfeld-ERG-Untersuchung, Kategorie II: mit Veränderungen der photopischen Funktion, Kategorie III: mit Einbußen der photopischen und skotopischen Funktion in der Ganzfeld-ERG-Untersuchung).

Die Verteilung der 25 Patienten hinsichtlich der nach den FAF eingeteilten Patientengruppen sowie die in diesen Gruppen erhaltenen Patientendaten können den nachstehenden Tabellen entnommen werden (Tabelle 3 - 5). Die zusammenfassende Darstellung der Patientengruppen wird den detaillierten Erläuterungen zu den einzelnen Patienten an dieser Stelle aus Gründen der Übersichtlichkeit vorangestellt.

In der ersten Gruppe wurden 9 von 25 Patienten (36%) mit einer zentralen, atrophisch erscheinenden Veränderung der Makula ohne periphere Beteiligung zusammengefasst (Abb. 13 A). Die Patienten der zweiten Gruppe ($n = 8$ Patienten, 32%) zeigten zusätzlich zu der zentralen Läsion Veränderungen in Form von Flecken erhöhter FAF, die über die Gefäßarkaden hinausreichten (Abb. 15). In die dritte Gruppe wurden 7 von 25 Patienten (28%) eingeschlossen, die sehr ausgeprägte zentrale und periphere Fundusveränderungen zeigten (Abb. 16).

Eine Patientin mit nachgewiesenen biallelischen *ABCA4*-Genmutationen (eine pathologische Mutation sowie eine als fraglich pathogen einzuschätzende Mutation) wies einen nahezu unauffälligen Fundusautofluoreszenz-Befund auf (normale

Fundusautofluoreszenz links, rechts ein kleiner hyperfluoreszenter Spot parafoveal). Im multifokalen Elektroretinogramm zeigte sich eine zentrale Absenkung der korrelierten Potentiale bei minimalen Veränderungen im SD-OCT (links unauffällig, rechts eine parafoveale Zyste sowie eine makuläre Druse). Subjektiv bestanden keine Beschwerden. Diese Patientin wurde separat bewertet.

Die Klassifizierung von Patienten in die drei genannten Gruppen stellt keine starre Trennung in verschiedene Phänotypen dar. Vielmehr beschreibt sie das Ausmaß der phänotypischen Variation im Krankheitsverlauf bei Patienten mit Mutationen in beiden Allelen des *ABCA4*-Gens (Lorenz & Preising 2005).

Patientengruppe I

In Gruppe I waren 6 (66,7%) Patienten weiblich und 3 (33,3%) männlich. Das mittlere Alter bei der ersten SD-OCT Aufnahme in der Klinik betrug 25,7 Jahre (Median 29; SD 13,96; 7 - 53 Jahre). Das Alter beim Auftreten der ersten subjektiven Symptome lag im Mittel bei 17,8 Jahren (Median 15; SD 8,94; 7 - 30 Jahre). Die Erkrankungsdauer betrug im Mittel 7,9 Jahre (Median 7; SD 7,8; 0-23 Jahre). Die Patienten der Gruppe I zeigten eine zentral verminderte oder fehlende FAF umgeben von einem Saum gleichmäßig oder fleckförmig erhöhter Autofluoreszenz. Der mittelperiphere und periphere Bereich der Retina stellte sich in den Aufnahmen sehr homogen ohne oder mit nur vereinzelt Flecken erhöhter FAF dar. Die Patientin 2557_01 aus der Gruppe I (siehe Abb. 14) wurde als einzige im Verlauf über 10 Monate beobachtet. Es zeigte sich eine in der FAF sichtbare Vergrößerung der zentralen Läsion im zeitlichen Verlauf. Zudem waren die Flecken erhöhter FAF zahlreicher.

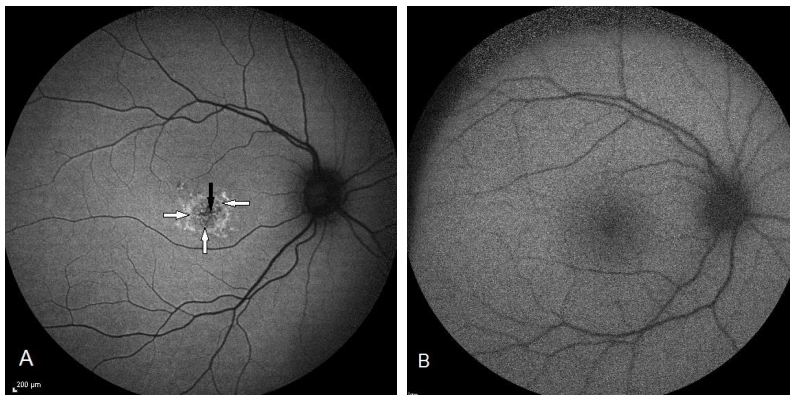


Abb. 13 Beispielhafte Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen eines Patienten der Gruppe I und eines Normprobanden

A) Charakteristische FAF-Aufnahme der Gruppe I (Patientin 2689_01, 29 Jahre). Das zentrale Areal erniedrigter oder fehlender FAF (schwarzer Pfeil) ist von einem gefleckten Muster mit hyperfluoreszenten Flecken (weiße Pfeile) umgeben. Mittelperipher und peripher ist eine homogene Verteilung der FAF zu erkennen. B) Fundusautofluoreszenz-Aufnahme eines gesunden Erwachsenen.

Spectralis HRA+OCT, (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

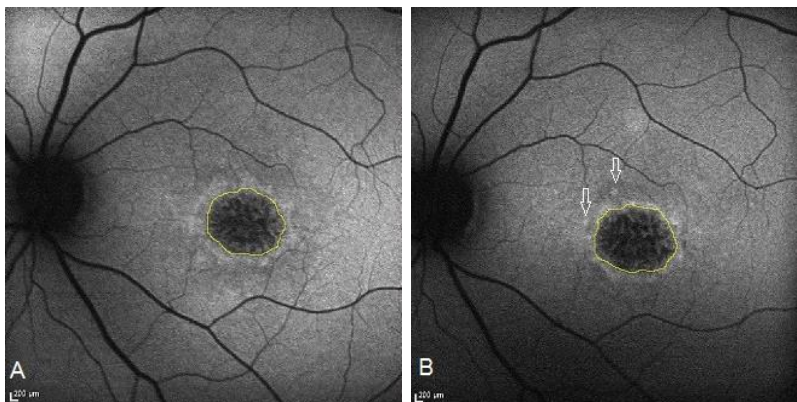


Abb. 14 Veränderungen der FAF der Patientin 2557_01 aus Patientenruppe I im Verlauf

A) FAF im Alter von 19 Jahren. B) FAF 10 Monate später. Es zeigt sich eine Fokussierung der ringförmigen FAF sowie eine Fokussierung zu fleckförmiger FAF im perimakulären Bereich (Pfeile). Die zentrale Läsion hat über den 10-monatigen Beobachtungszeitraum an Größe zugenommen (von 5828 auf 6532 Pixel). Die Messungen wurden mit Hilfe des ImageJ Programms erstellt (Schindelin et al. 2015).

Spectralis HRA+OCT, (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

Patientengruppe II

In der Gruppe II wurden 8 Patienten (3 Frauen; 37,5%, 5 Männer; 62,5%) zusammengefasst. Die Erstuntersuchung (Definition s.o.) erfolgte mit durchschnittlich 18,5 Jahren (Median 14; SD 9,8; 9 - 32 Jahre). Das mittlere Alter bei Auftreten der ersten subjektiven Symptome lag bei 14,4 Jahren (Median 13; SD 8,47; 8 - 33 Jahre). Die Erkrankungsdauer betrug im Mittel 4,1 Jahre (Median 2,5; SD 5,59; 0 - 17 Jahre). Die Einteilung in Gruppe II erfolgte aufgrund einer zentral erniedrigten oder fehlenden FAF sowie multiplen fokalen Erhöhungen der FAF im Bereich innerhalb der Gefäßbögen und darüber hinaus (Abb. 15). Bei 7 der 8 Patienten konnten im Verlauf bis zu vier Kontrolluntersuchungen durchgeführt werden (siehe Tabelle 4). Hierbei zeigte sich, dass die Anzahl der Flecken zunahm und die meisten Flecken im Verlauf, wie bereits in der Literatur beschrieben wurde (Theelen et al. 2008), ihre zu Anfang erhöhte Autofluoreszenz verloren. Der Bereich der fehlenden zentralen FAF nahm im Verlauf an Größe zu (siehe Abb. 15).

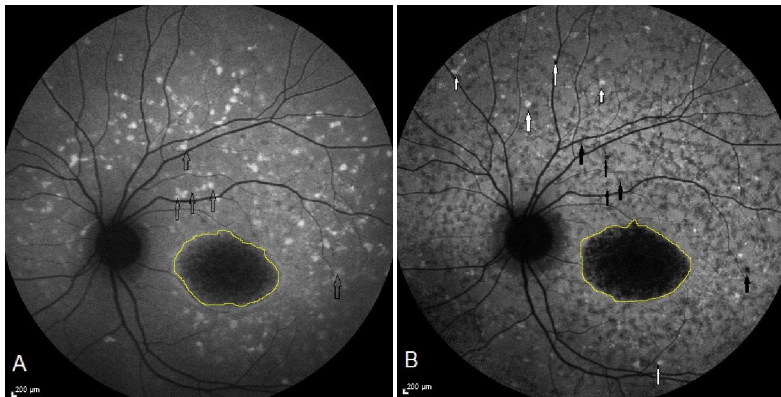


Abb. 15 Beispiel für die FAF-Verteilung bei einem Patienten der Patientengruppe II (1827_01) im zeitlichen Verlauf im Alter von 11 Jahren und 15 Jahren

Zentral imponiert ein dunkles Areal mit fehlender FAF als Zeichen der RPE-Atrophie, umgeben von einem Areal mit erhöhter FAF, die einer Lipofuszinakkumulation entspricht. Mittelperipher und peripher imponieren zahlreiche fleckförmige Erhöhungen der FAF-Intensität. Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland). A) FAF-Darstellung im Alter von 11 Jahren. Eine zentrale Atrophiezone zeigt sich als verminderte bzw. fehlende FAF. Es sind hyper- und hypo fluoreszente Flecken zu erkennen. B) 4 Jahre später. Die Fläche der zentral reduzierten FAF in der Makula hat über die Zeit flächenmäßig zugenommen (von 8980 auf 10100 Pixel. Messungen mit ImageJ), ebenso die Anzahl der Flecken. Die Flecken erhöhter FAF haben im Verlauf zu erniedrigter FAF gewechselt. Die durchsichtigen Pfeile in Bild A markieren die Flecken mit erhöhtem FAF-Signal, die mit der Zeit ihre FAF-Intensität verloren haben (schwarze Pfeile in Bild B). Die weißen Pfeile markieren die neu hinzugekommenen Flecken mit erhöhtem FAF-Signal (Bild B). Spectralis HRA+OCT, (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

Patientengruppe III

In die Gruppe III wurden 7 (28%) von 25 Patienten eingeschlossen. Davon waren 5 (71,4%) weiblich und 2 (28,6%) männlich. Das mittlere Alter bei Erstuntersuchung betrug 30,4 Jahre (Median: 31; SD 15,29; 13 - 59 Jahre). Mit durchschnittlich 19 Jahren (Median: 11; SD 19,17; 5 - 52 Jahre) wurden bei den Patienten die ersten Symptome bemerkt. Die mittlere Erkrankungsdauer betrug 11,2 Jahre (Median: 8; SD 5,45; 7 - 20 Jahre). Die Patienten der Gruppe III boten das typische Erscheinungsbild der fortgeschrittenen Netzhautdegeneration mit multiplen Flecken vor allem reduzierter FAF und ausgeprägten atrophischen Veränderungen in der zentralen Makula mit entsprechend fehlender FAF (Abb. 16).

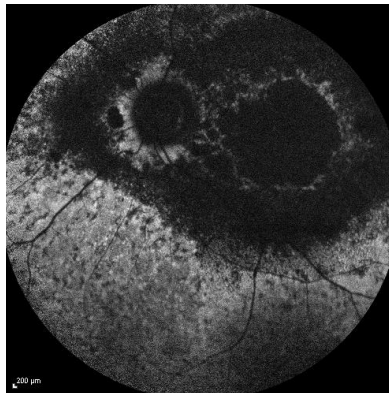


Abb. 16 FAF-Beispiel für die Patientengruppe III (Patient 1882_01)

Die FAF ist im Bereich der diffusen Pigmentepithelatrophie reduziert, zentral fehlt die FAF Intensität völlig. Nach peripher imponieren noch wenige Flecken mit erhöhter FAF. Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

Die genetischen Untersuchungen der 25 Patienten dieser Arbeit wurden bei Bioscientia GmbH Ingelheim, sowie im Labor für molekulare Ophthalmologie der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde der Justus-Liebig Universität Gießen durchgeführt. Eine Zusammenstellung der identifizierten compound-heterozygoten Mutationen des ABCA4-Gens ist in der Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Aufstellung der Mutationen der 25 Patienten

Patient ID	Mütterliche Mutation	Vorhergesagter Effekt	Väterliche Mutation	Vorhergesagter Effekt	Referenz
0138.04	c.2292delT	p.Cys764*	c.3626T>C	p.M1209T	Micro
Gruppe I					
0138.01	c.2292delT	p.Cys764*	c.5882G>A	p.G1961E	Micro
			c.2295G>T	p.S765R	Micro
0504.01	c.5882G>A	p.G1961E	c.5018+2T>A	Splice site	[1]
1499.01	c.5603A>T	p.N1868I ^a	c.3113C>T	p.A1038V	[1] [2]
2160.01	c.2588G>C	p.G863A ^a	c.5936C>T	p.T1979I	[3] Micro
2479.01	c.768G>T	Splice site	c.1622T>C	p.L541P	Micro [1]
			c.3113C>T	p.A1038V	
2557.01	c.5882G>A	p.G1961E	c.5603A>T	p.N1868I	[1] [2]
2557.04	c.5882G>A	p.G1961E	c.5603A>T	p.N1868I	[1] [2]
2678.01	c.4462T>C	p.C1488R ^k	c.4462T>C	p.C1488R	[4]
2689.01	c.1622T>C	p.L541P	c.5882G>A	p.G1961E	[1]
	c.3113C>T	p.A1038V			
Gruppe II					
0483.01	c.1622T>C	p.L541P	c.1654G>A	p.V552I	[1] Micro
	c.3113C>T	p.A1038V			
1827.01	c.4234C>T	p.Q1412*	c.1622T>C	p.L541P	[1]
			c.3113C>T	p.A1038V	
1827.04	c.4234C>T	p.Q1412*	c.1622T>C	p.L541P	[1]
			c.3113C>T	p.A1038V	
2018.01	c.122G>A	p.W41*	c.1268A>G	p.H423R	Micro [5]
2192.01	c.3085C>T	p.Q1029*	c.6529G>A	p.D2177N	[6, 7]
	c.5603A>T	p.N1868I	c.5603A>T	p.N1868I	[2]

2203.01	c.4469G>A	p.C1490Y	c.1622T>C	p.L541P	[1,2,6]
	c.5603A>T	p.N1868I	c.3113C>T	p.A1038V	
2400.01	c.286A>G	p.N96D	c.286A>G	p.N96D	[3]
2709.01	c.1622T>C	p.L541P	c.2588G>C	p.G863A	[1,3]
	c.3113C>T	p.A1038V			

Gruppe III

0033.01	c.4195G>A	p.E1399K	c.5929G>A	p.G1977S	
	c.6764G>T	p.S2255I			
1087.01	c.1622T>C	p.L541P	c.166T>G	p.F56V	[1]
	c.3113C>T	p.A1038V			
1348.01	c.1622T>C	p.L541P	c.3210_3211	p.S1071Cfs*14	[1]
	c.3113C>T	p.A1038V	dupGT		
1882.01	c.4070C>A	p.A1357E	c.4070C>A	p.A1357E	
		UPD			
2101.01	c.5603A>T	p.N1868I ^a	c.1957C>T	p.R653C	[2]
2394.01	c.5113C>T	p.R1705W ^a	c.5882G>A	p.G1961E	[1]
2678.02	c.4462T>C	p.V1488R ^k	c.4462T>C	p.V1488R	

Micro: ASPER Ophthalmics ABCA4 Mutationmicroarray, UPD: uniparentale Disomie, ^a: keine Segregation möglich, ^k: Konsanguinität der Eltern

Tabelle 3: Einteilung der Patienten in drei Gruppen in Anlehnung an die Einteilung von Fishman und Mitarbeitern (Fishman et al. 1999)

Patient ID	Geburtsdatum	Geschlecht	Alter bei der Erstuntersuchung [Jahre]	Alter bei der ED [Jahre]	Erkrankungs- dauer [Jahre]
0138.04	20.12.1948	W	62	(-)	(-)
Gruppe I					
0138.01	01.01.1980	W	30	15	15
0504.01	02.12.1975	W	35	25	10
1499.01	24.04.1955	W	53	30	23
2160.01	12.05.1989	M	19	8	11
2479.01	30.03.2004	W	7	7	<1
2557.01	25.03.1992	W	19	14	5
2557.04	22.12.1982	M	29	29	<1
2678.01	06.09.2002	M	10	10	<1
2689.01	22.03.1984	W	29	22	7
Gruppe II					
0483.01	05.03.1992	W	16	14	2
1827.01	30.11.1997	M	11	8	3
1827.04	04.01.2001	W	9	8	1
2018.01	27.08.1998	W	11	7	4
2192.01	07.04.1977	M	32	15	17
2203.01	07.02.1997	M	12	12	<1
2400.01	22.05.1986	M	24	18	6
2709.01	23.10.1979	M	33	33	<1
Gruppe III					
0033.01	21.07.1976	W	32	19	13
1087.01	16.07.1995	M	13	5	8
1348.01	03.12.1994	W	16	8	8
1882.01	09.07.1985	M	25	(-)	(-)
2101.01	25.04.1949	W	59	52	7
2394.01	26.08.1979	W	31	11	20
2678.02	30.03.1976	W	37	(-)	(-)

ED: Erstdiagnose

3.2.1 Gruppenspezifische Diagnosenverteilung

Bis auf eine Patientin mit Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (ZSD) war bei allen Patienten der Gruppe I initial die Diagnose Morbus Stargardt (STGD) gestellt worden. Bei den Patienten der Gruppe II lautete die Diagnose bei 3 Patienten Morbus Stargardt und bei 5 Patienten ZSD. Alle bis auf einen Patienten der Gruppe III waren als ZSD diagnostiziert worden. Bei einer Patientin der Gruppe III war ein Morbus Stargardt diagnostiziert worden.

3.2.2 Visuelle Wahrnehmung

Tabelle 4 gibt einen Überblick über die visuellen Fähigkeiten der 25 Patienten. Bei 7 Patienten der Gruppe I, bei 5 Patienten der Gruppe II und bei 6 Patienten der Gruppe III wurden Informationen bezüglich der allgemeinen Sehbeschwerden dokumentiert. Hierzu zählten Photophobie, Nacht- und Dämmerungssehstörungen und Veränderungen der Farbwahrnehmung. Unabhängig von der Gruppeneinteilung gaben alle Patienten eine Blendungsempfindlichkeit an. Zwei von 7 Patienten (28,6%) der Gruppe I hatten schon initial Probleme in der Dunkelheit, während sich bei 2 von 4 Patienten (50%) der Gruppe II und 4 von 4 Patienten (100%) der Gruppe III das Nacht- und Dämmerungssehen zunehmend verschlechterte.

Das Farbensehen wurde mit Hilfe der saturierten und / oder desaturierten Panel-D-15-Tests untersucht. Es zeigte sich, dass in der Gruppe I das Farbensehen nur gering beeinträchtigt war. Von Gruppe I zu Gruppe III wurde eine zunehmende Verschlechterung des Farbensehens beobachtet. In der Gruppe III war der desaturierte Test nur noch bei 2 von 4 Patienten (50%) durchführbar.

Die Angabe der bestkorrigierten Sehschärfe (BCVA) erfolgte als Dezimalbruch und wurde anschließend zum Zweck der Auswertung in das logMAR-System umgerechnet. Bei der Darstellung der Sehschärfe wurde nach den Empfehlungen von Gräf und Becker vorgegangen (Becker & Gräf 2004). Der mittlere Visus der Patienten der Gruppe I lag rechts bei 0,125 (0,9 logMAR; Median 0,9; SD 0,5; 0,1 - 1,6 logMAR), links bei 0,125 (0,9 logMAR; Median 0,6; SD 0,4; 0,1 - 1,3 logMAR). Dem gegenüber war die Gruppe II mit einem Visus rechts im Mittel von 0,16 (0,8 logMAR; Median 1; SD 0,5; 0,2 - 1,3 logMAR), links von 0,25 (0,6 logMAR; Median 0,6; SD 0,5; 0 - 1,3 logMAR). In der Gruppe III war der Visus im Mittel deutlich reduziert: rechts 0,05 (1,3

logMAR; Median 1,3; SD 0,6; 0,4 - 2,3 logMAR), links 0,08 (1,1 logMAR; Median 1,3; SD 0,5; 0,4 - 1,3 logMAR).

Das sphärische Äquivalent (= Sphärenwert + 1/2 Zylinderwert) lag zwischen -5,75 und +2,75 Dioptrien. Detaillierte Angaben zum Visus und zur Refraktion gibt Tabelle 4 wieder.

Tabelle 4: Augenärztliche Daten der Patienten

Patient-ID	Diagnose	Alter	Photophobie	Probleme im Dunkeln	Farbsinn	Refraktion RA (sph/cyl/A) = S.Ä.	Refraktion LA (sph/cyl/A) = S.Ä.	logMAR RA	logMAR LA
0138.04	STGD	62	→	→	d: +/- trit.	+2,-1,5/87 = +1,25	+1,5/-1,25/95 = +0,875	0,1	0,1
Gruppe I									
0138.01	STGD	30	↑	↑	d: +/- trit.	-3/-0,5/85 = -3,25	-3/-0,5/169 = -3,25	1,3	1,3
0504.01	STGD	35	↑	→	d: +/-	-0,75/-0,75/14 = -1,125	-0,5/-1,25/177 = -1,125	1,3	1,3
1499.01	STGD	53	↑	↑	d: +/- trit.	+1,75/-2,25/4 = +0,625	+1,5/-2,5/172 = +0,25	0,4	0,4
2160.01	STGD	19	(-)	(-)	d: +/-	-2,25	-0,25/-1/10 = -0,75	0,9	1
2479.01	STGD	7	↑	→	d: ↓↓	-2,25/-1,75/9 = -3,125	-1,25/-1,25/178 = -1,875	1,6	1,3
2557.01	STGD	19	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0,9	0,7
		20	↑	→	d: ↓	-2,25	-2/-0,25/164 = -2,125	1	1
2557.04	STGD	29	↑	→	(-)	+0,5/-1,25/171 = -0,125	+1,25/-1,75/172 = +0,375	0,1	0,3
2678.01	STGD	10	(-)	(-)	d: ↓↓	+1,5/-0,5/70 = +1,25	+1,75/-0,25/171 = +1,625	1	1,2
2689.01	ZSD	29	↑	→	d: +/-	-1,75/-1/10 = -2,25	-2,5/-2/165 = -3,5	0,7	0,7
Gruppe II									
0483.01	ZSD	16	(-)	(-)	d: R↓, L↓	+0,5/-1/5 = 0	+0,5/-1/4 = 0	1,3	1,3
		19	↑	↑	d: R↓, L↓	+0,5/-1/5 = 0	+0,5/-1/4 = 0	1	1,5

1827.01	ZSD	11	(-)	(-)	d: R ₁ prot., L+/- trit.	+3,25/-2,25/88 = +2,125	+2,75/-2/80 = +2,75	1,3	1,3
		12	(-)	(-)	(-)	+1,75/-1,75/89 = +0,875	+1,75/-2/85 = +0,75	1,3	1,3
		13	(-)	(-)	(-)	+2,5/-2,5/89 = +1,25	+2,5/-2,25/89 = +1,375	1,3	1,3
		15	(-)	(-)	(-)	+3/-1,75/83 = +2,125	+2,75/-1,5/84 = +1,5	1,3	1,1
		16	(-)	(-)	d: R ₁ ↓ prot., deut.	-3,75/-2/288 = -4,75	-1,1,25/80 = -1,625	1,6	1
1827.04	ZSD	9	↑	(-)	d: ↓	+0,5/-1/8 = 0	+0,75/-1/172 = +0,25	0,3	0,2
		10	↑	(-)	(-)	+1/-1/10 = +0,5	+0,75/-1,5/164 = 0	0,9	0,9
		12	↑	(-)	(-)	+1,5/-2,0/13 = +0,5	+1,25/-2/168 = +0,25	1	1
		13	↑	(-)	(-)	-0,5/-2,5/9 = -1,75	-0,75/-2,25/166 = -1,875	1,3	1,3
2018.01	ZSD	11	↑	→	(-)	+1,25/-1,75/8 = +0,375	+1,5/-1,75/172 = +0,625	1	1
		12	(-)	(-)	s: R ₁ ↓, LopB	(-)	(-)	1,3	1
		15	(-)	(-)	s: opB	-1,75/-2,5/2 = -3,0	-2/-2/2 = -3,0	1,3	1
2192.01	STGD	32	(-)	(-)	d: ↓↓	(-)	(-)	1	1
		33	(-)	(-)	(-)	-1,5	-1,5	1	1
2203.01	ZSD	12,4	(-)	(-)	(-)	+1,5/-2,25/8 = +0,375	+1/-2/160 = 0	1,3	0,2
		12,9	(-)	(-)	d: +/-	+0,25/-2/6 = -0,75	+0,25/-1,75/165 = -0,625	1	1
		13	↑	→	(-)	(-)	(-)	1,3	1
		15	(-)	(-)	d: ↓	(-)	(-)	1,3	1,3
		16	↑	(-)	(-)	-2/-2,25/1 = -3,125	-1,75/-1,75/166 = -2,625	1,3	1,3
2400.01	STGD	24	↑	↑	(-)	(-)	(-)	0,3	0,2
		26	↑	↑	(-)	-1,25/-0,75/166 = -1,625	-1,5/-0,75/4 = -1,875	0,4	0,6
2709.01	STGD	33	(-)	(-)	opB	(-)	(-)	0,2	0

Gruppe III

0033.01	ZSD	32	(-)	(-)	(-)	+0,75/-0,75/87 = +0,375	+0,25/-0,75/177 = -0,125	1,3	1,3
		34	(-)	(-)	(-)	+0,5/-0,75/77 = +0,125	-0,25/-0,5/174 = -0,5	1,3	1
		35	↑	↑	(-)	+0,25/-0,5/76 = 0	-0,25/-0,5/168 = -0,5	1,3	1,3
1087.01	ZSD	13	(-)	(-)	(-)	+2,25/-0,75/80 = +1,875	+3/-0,5/175 = +2,75	1	0,9
		17	↑↑	↑	d.↓,trit.	(-)	(-)	1	1
1348.01	ZSD	16	(-)	(-)	s:+/-	-1,25/-3,75/7 = -3,125	-1,75/-3/168 = -3,25	1,3	1,3
		17	↑	(-)	s:+/-	-2/-1,5/15 = -2,75	-2,5/-2,75/147 = -3,875	1,7	1,7
1882.01	ZSD	25	(-)	(-)	s.↓,deut.	(-)	(-)	1,6	1,6
		27	↑	(-)	d.↓↓	-4,5/-3,25/173 = -6,125	(-)	1,7	1,7
2101.01	STGD	59	(-)	(-)	(-)	-0,25/-1,5/109 = -1,0	-0,5/-2/37 = -1,5	0,4	0,4
		62	↑	↑	(-)	-1/-1,75/105 = -1,875	-1,25/-1,75/36 = -2,125	0,7	1
		63	↑	↑↑	s.↓↓	-1,25/-1,75/113 = -2,125	-1,5/-1,5/45 = -2,25	1,3	1,6
2394.01	ZSD	31	↑↑	↑↑	(-)	-2,5/-1,75/180 = -3,375	-2,5/-1,75/175 = -3,375	1,3	1,6
		35	↑	↑↑	(-)	-5,25/-1/56 = -5,75	-3,75/-1,75/177 = -4,625	1,6	1,8
2678.02	ZSD	37	(-)	(-)	(-)	-0,75/-1,25/2 = -1,375	+0,25/-0,75/168 = -0,125	2,3	0,7

RA: rechtes Auge, LA: linkes Auge, sph: Sphärenwert (in Dioptrien), zyl: Zylinderwert (in Dioptrien), A: Achse (in Grad), S.Ä.: Sphärisches Äquivalent, (-): nicht durchgeführt, →: nicht vorhanden, ↑: erhöht, ↑↑: deutlich erhöht, s: saturiert, d: desaturiert, prot: Protanachse, trit: Tritanachse, deut: Deutanachse, +/-: einzelne Verwechslungen, ↓: seltene Verwechslungen, ↓↓: häufige Verwechslungen

3.2.3 Organbefund

Der Vorderabschnittsbefund stellte sich (bis auf 5 Fälle von altersbedingter Linsentrübung) unauffällig dar. Die Funduskopie zeigte deutliche gruppenspezifische Unterschiede.

Bei allen Patienten der Gruppe I zeigte sich ein unauffälliger Befund der Papille. Die Gefäße sowie die periphere Netzhaut stellten sich mit Ausnahme von 2 Patienten (0138_01, 1499_01), deren Fundus vereinzelte gelbliche Flecken nasal und oberhalb der Papille zeigte, unauffällig dar. In der Makula waren eine zentrale Atrophiezone sowie Pigmentverschiebungen und Flecken erkennbar (Abb. 17).

Bei 5 von 8 Patienten der Gruppe II war die Papille unauffällig. Bei den anderen drei Patienten war eine dezente Abblassung der Papille in der Funduskopie erkennbar, die sich photographisch noch nicht erfassen ließ. Der Bereich der Makula zeigte atrophische Veränderungen mit Pigmentverschiebungen. Bei allen Patienten der Gruppe II waren gelbliche Flecken in der mittleren und peripheren Retina erkennbar. Bei einer Patientin (2018_01) waren zusätzlich knochenkörperchenartige Pigmentverklumpungen über den Fundus verteilt. Anhand des Patienten 1827_01 aus Gruppe II (siehe Abb. 18), bei dem der Verlauf über fünf Jahre dokumentiert werden konnte, war eine Vergrößerung der makulären Atrophiezone sowie eine Zunahme der Anzahl der hellen Flecken im Fundusbild nachvollziehbar. Die Patienten der Gruppe III charakterisierte eine abgeblasste Papille bei 6 von 7 Patienten, eine diffuse Pigmentepithelatrophie und Pigmentumschichtungen. Bei 2 von 7 Patienten der Gruppe III zeigten sich knochenkörperchenartige Pigmentverklumpungen am hinteren Pol (Abb. 19).

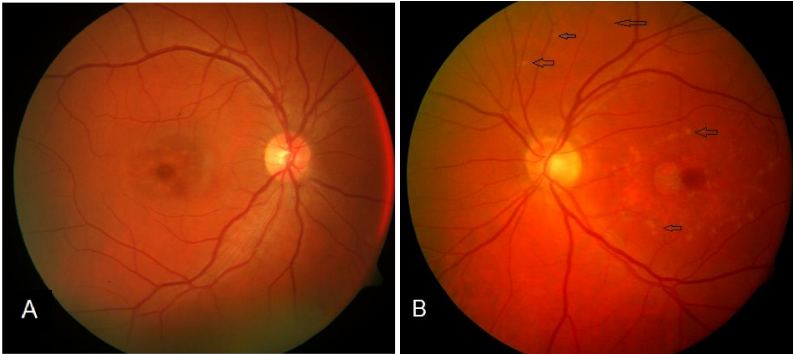


Abb. 17 Beispielhafte Darstellung des Augenhintergrundes von Patienten der Gruppe I

A) Patientin 2557_01 im Alter von 20 Jahren. Im Bereich der Fovea und Parafovea findet man Pigmentepithelverschiebungen sowie eine zentrale RPE-Atrophie. Die periphere Netzhaut stellt sich unauffällig dar. B) Patientin 1499_01 im Alter von 53 Jahren. Man beobachtet zentral eine Atrophie des RPE, umgeben von multiplen gelblichen Flecken (Pfeile). Vereinzelte Flecken finden sich auch bereits oberhalb der Papille in der Mittelperipherie (Pfeile). Die periphere Netzhaut ist unauffällig. Funduskamera FF 450 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland)

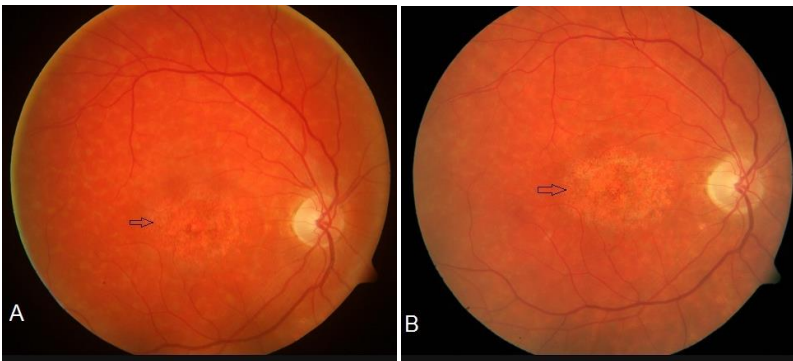


Abb. 18 Beispielhafte Darstellung des Augenhintergrundes bei einem Patienten der Gruppe II

Patient 1827_01 im Alter von A) 12 Jahren und B) 15 Jahren. Das Fortschreiten der zentralen Atrophie sowie die Zunahme der fleckförmigen Einlagerungen am hinteren Pol lassen sich über den Verlauf von 3 Jahren beobachten. Funduskamera FF 450 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland)



Abb. 19 Beispielhafte Darstellung des Augenhintergrundes bei Patienten der Gruppe II

Patient 1882_01 im Alter von 27 Jahren. Es imponieren zentrale großflächige Atrophien des RPE und der Choriokapillaris. Außerdem finden sich Pigmentverklumpungen, eine Papillenabblassung sowie enge Gefäße. Funduskamera FF 450 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland)

Tabelle 5: Morphologische Daten der Patienten

Patient ID	Alter	VA	Papille	Makula	Peripherer Fundus	Gefäß- bögen	FAF
0138.04	62	Kat	opB	opB	opB	opB	opB
Gruppe I							
0138.01	30	opB	opB	Pv, Atr	opB	opB	z↓ r ff↑
0504.01	35	opB	opB	Pv, Atr, F	opB	opB	z↓ r ff↑
1499.01	53	Kat	opB	Atr, F	F +/-	opB	z↓ r ff↑
2160.01	19	opB	opB	Atr	opB	opB	z↓ r ff↑
2479.01	7	opB	opB	Atr, Pv	opB	opB	z↓ r ↑
2557.01	19	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	20	opB	opB	Atr	opB	opB	z↓ r ↑
2557.04	29	opB	opB	Aufh	opB	opB	z↓ ff
2678.01	10	opB	auff. Exc	Pv	opB	opB	z↓ r ↑↑
2689.01	29	opB	opB	Pv, Aufh	opB,	opB	z↓ r ↑

Gruppe II

0483.01	16	opB	hell	Pv, Atr	F	opB	z↓↓ r↑+p↓
	19	opB	hell	↑	↑	opB	z↓↓ r↑+p↓↓
1827.01	11	opB	opB	Atr, Aufh, F	F	opB	z↓↓+ p↓↓ff↑
	12	opB	opB	Atr, Aufh, F	F	opB	s.o.
	13	opB	opB	Atr, Aufh, F	F	opB	z↓↓+ p↓↓ff↑
	15	opB	opB	Atr, Aufh., F	F	opB	s.o.
	16	opB	opB	Atr, Aufh, F↑	F↑	opB	z↓↓+ p↓↓ff↓↓
1827.04	9	opB	opB	Atr +/-	F.	opB	z↓+ p↓ff↑
	10	opB	opB	Atr +/-	F.	opB	s.o.
	12	opB	opB	Atr, Pv +/-	F.	opB	s.o.
	13	opB	opB	Atr, Pv, ↑↑	F.↑↑	opB	z↓↓+ p↓↓ff↑↑
2018.01	11	opB	opB	Atr, F	Kb	opB	z↓ r↑ p↑
	12	opB	opB	Atr, F	Kb	opB	s.o.
	15	opB	opB	Atr, F	Kb	opB	z↓ r↑ p↑↑
2192.01	32	opB	opB	Atr, F	F	opB	z↓↓+ p↓ff↑
	33	opB	opB	Atr, F	F	opB	z↓↓+ p↓↓+ff↑
2203.01	12,4	opB	opB	Atr, Pv, F	F	opB	z↓+ p↓↓ff↑
	12,9	opB	opB	Atr, Pv, F	F	opB	s.o.
	13	opB	opB	Atr, Pv, F	F	opB	s.o.
	15	opB	opB	Atr, Pv, F	F	opB	s.o.
	16	opB	opB	Atr, Pv, F	F	opB	z↓↓+ p↓↓ff↑
2400.01	24	opB	hell	Atr, F	F	opB	(-)

	26	opB	hell	Atr, F	F.	opB	z↓+ p↓↓
2709.01	33	Kat	opB	R: Atr, L: F	F	opB	zff↓, p↓ff↑↑

Gruppe III

0033.01	32	opB	opB	Atr, F	Pv, F	opB	z↓↓↓+ p↓↓↓
	34	opB	opB	Atr, F	Pv, F	opB	s.o.
	35	opB	hell	Atr, Pv	Pv, F↑	opB	s.o.
1087.01	13	opB	opB	Atr, Pv	keine Kb	opB	z↓↓↓+ p↓↓↓
	17	opB	w	Atr, Pv.	Kb	opB	s.o.
1348.01	16	opB	hell	Atr, Pv.	Kb	opB	z↓↓↓+ p↓↓↓
	17	opB	hell	Atr, Pv	Kb	opB	s.o.
1882.01	25	opB	hell	Atr, Pv	Pv, F	opB	z↓↓↓+ p↓↓↓
	27	opB	hell	Atr, Pv	Pv, F	opB	s.o.
2101.01	59	opB	opB	Atr, Pv	Pv, F	opB	z↓↓↓+ p↓↓ff↑
	62	opB	opB	Atr, Pv.	Pv, F	opB	s.o.
	63	Kat	opB	Atr, Pv.	Pv, F	opB	s.o.
2394.01	31	opB	w	Atr, Pv, F	Pv, F	eng	z↓↓↓+ p↓↓
	35	opB	↑	↑	Pv, F	eng	z↓↓↓+ p↓↓↓
2678.02	37	Kat	hell	Atr, Pv	F	opB	z↓↓↓+ p↓↓↓

Atr: Atrophie, auff. Exc: auffällige Exkavation, Aufh: Aufhellungen, F: Flecken, ff: fleckförmig, Kat: Katarakt, Kb: Knochenbälkchenartige Veränderungen, L: linkes Auge, opB: ohne pathologischen Befund, p: peripher, Pv: Pigmentverschiebungen, R: rechtes Auge, r: ringförmig perifoveolär/perimakulär, s.o.: siehe oben, w: wachsgelb z: zentral, ↓: erniedrigt, ↓↓: mäßig erniedrigt, ↓↓↓: stark erniedrigt, ↑: erhöht, ↑↑: mäßig erhöht, ↑↑↑: stark erhöht

3.2.4 Elektrophysiologie

3.2.4.1 Ganzfeld-ERG

Zusätzlich zu den Beschreibungen und basierend auf den Empfehlungen von Lois und Mitarbeitern (Lois et al. 2001) wurde eine Eingruppierung der Patienten nach ERG-Ergebnis in drei Kategorien angewendet.

Insgesamt 24 (96%) Patienten erhielten eine Ganzfeld-ERG-Untersuchung (Gf-ERG). Bei 8 von 9 (88,8%) Patienten der Gruppe I (mittleres Alter in Gruppe I bei Erstuntersuchung 25,7 Jahre; 7 - 53 Jahre) stellte sich das Ganzfeld-ERG unter skotopischen und photopischen Bedingungen unauffällig dar (bei 2 davon an der unteren Normgrenze) (Kategorie I nach Lois et al., 2001). Bei der Patientin 0138.01 der Gruppe I zeigten sich die Amplituden der skotopischen Stimuli bei 50% der Mittelnorm ohne Latenzverlängerung. Diese Patientin wies auch vereinzelte Flecken am hinteren Pol und eine ca. 10 mm² große zentrale Läsion mit fehlender ISe-Schicht auf.

Unter den 8 Patienten der Gruppe II (mittleres Alter in Gruppe II bei Erstuntersuchung 16,4 Jahre; 9 - 32 Jahre) erhielten 7 (87,5%) Patienten eine Ganzfeld-ERG-Untersuchung. Bei 6 Patienten war die Untersuchung auffällig (bei einem Patienten Kategorie II, bei 5 Patienten Kategorie III), bei einem Patienten unauffällig. In der Gruppe II konnten 4 (57,1%) Patienten im Verlauf über bis zu 5 Jahren beobachtet werden. Diese Patienten zeigten im zeitlichen Verlauf eine Tendenz zur Abnahme der Amplituden und Verlängerung der Latenzen im skotopischen und photopischen Bereich; 2 davon wechselten im Verlauf von der Kategorie II in die Kategorie III nach Lois et al. Eine Patientin (2400_01) zeigte keine Veränderungen - weder der Amplituden noch der Latenzen.

In der Gruppe III (mittleres Alter in Gruppe III bei Erstuntersuchung 30,4 Jahre; 13 - 59 Jahre) wurde bei allen Patienten eine Ganzfeld-ERG-Untersuchung durchgeführt. Bei 5 Patienten war eine Beobachtung im zeitlichen Verlauf möglich und zeigte eine Verschlechterung, sodass alle Patienten im Verlauf auffällig wurden. 5 der 7 Patienten wurden bereits bei der Erstuntersuchung in die Kategorie III nach Lois et al., 2001 eingruppiert. Es war insgesamt eine starke Verminderung der Amplituden im Vergleich zu den Patienten der Gruppe II zu beobachten. Bei 3 von 7 (42,9%) Patienten der Gruppe III waren die photopischen, bei einem davon auch die skotopischen Amplituden bereits unterhalb der Nachweisgrenze.

3.2.4.2 Multifokales ERG

Ein multifokales ERG (mf-ERG) wurde bei 22 (88%) Patienten durchgeführt. Die Ableitungen in dieser Untersuchung waren bei allen Patienten pathologisch verändert. Diese pathologischen Befunde zeigten sich bereits auch bei den Patienten der Gruppe I mit wenig ausgeprägten morphologischen Veränderungen und geringer Sehminderung. Der Grad der Pathologie nahm von der Patientengruppe I bis Patientengruppe III zu. Es zeigten sich dementsprechend Befunde von gering erniedrigten korrelierten Potentialen für die zentralen Hexagone bis hin zur Abwesenheit ableitbarer korrelierter Potentiale (Abb. 20).

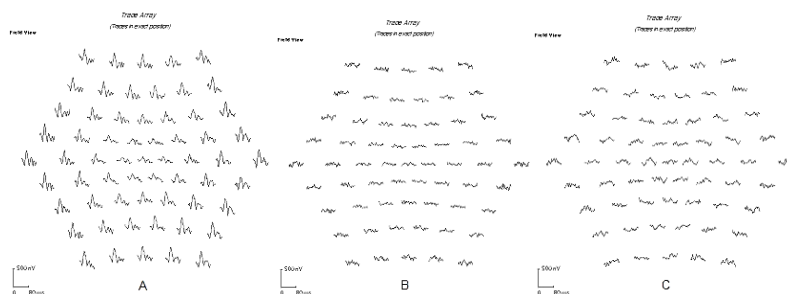


Abb. 20 Beispiele einer mf-ERG-Untersuchung in Darstellung der regionalen Reizantwortkurven bei Patienten der Gruppe A) I, B) II und C) III

A) Aus den Ableitungen ist eine Reduzierung der korrelierten Potentiale für die zentralen Hexagone bei dem Patienten 2557_04 der Gruppe I ersichtlich, B), C) die korrelierten Potentiale bei dem Patienten 1827_01 der Gruppe II und der Patientin 2394_01 der Gruppe III sind nicht sicher reproduzierbar. VERIS™ Science, Version 5.1 (EDI-Electro-Diagnostic-Imaging Inc., Redwoodcity, USA), 61 Hexagone

3.2.5 Gesichtsfelduntersuchungen

3.2.5.1 Goldmann-Perimetrie

Eine Goldmann-Perimetrie wurde bei insgesamt 22 (88%) Patienten durchgeführt. In Gruppe I wurden 6 von 9 (66,67%) Patienten untersucht. Bei einem von 6 untersuchten Patienten war diese Untersuchung unauffällig. Bei 2 weiteren Patienten war die Untersuchung nur bis Marke I/2 möglich. Patientin 1499_01 zeigte ein Zentralskotom für die Marke I/1 innerhalb der zentralen 10°. Bei der Patientin 2479_01 war eine

sinnvolle Auswertung der Perimetrie aufgrund stark reduzierter Kooperation während der Untersuchung nicht möglich.

In Gruppe II wurde bei allen 8 Patienten eine Goldmann-Perimetrie durchgeführt. Alle Patienten dieser Gruppe zeigten relative oder absolute Zentral- und Parazentralskotome mit Zunahme der Größe der Skotome im zeitlichen Verlauf bei 5 (62,5%) von 8 Patienten.

Bei allen 7 Patienten der Gruppe III wurde eine Goldmann-Perimetrie-Untersuchung durchgeführt. Im Gesichtsfeld fanden sich bei allen Patienten parazentrale und zentrale Skotome.

3.2.5.2 Funduskontrollierte Perimetrie

Eine funduskontrollierte Perimetrie (MP1) erfolgte insgesamt bei 14 Patienten.

Sie wurde bei 4 der 9 (44,4%) Patienten in Gruppe I durchgeführt. Hier zeigten sich bei 3 Patienten überwiegend eine extrafoveale Fixation und ein Zentralskotom im Bereich der zentralen Atrophiezone. Die oben genannte Patientin 1499_01 mit einem Visus von beidseits 0,4 (0,4 logMAR) zeigte zentral eine kleine Stelle mit stark reduzierter Restempfindlichkeit, aber zentraler Fixation. Parazentral betrug die Empfindlichkeit 0 dB (siehe Abb. 22). Die Diskrepanz zwischen der Goldmann-Perimetrie und dem guten Visus ist hier auf Lücken im zentralen Gesichtsfeld aufgrund der siebartig verteilten Veränderungen am hinteren Pol zurückzuführen.

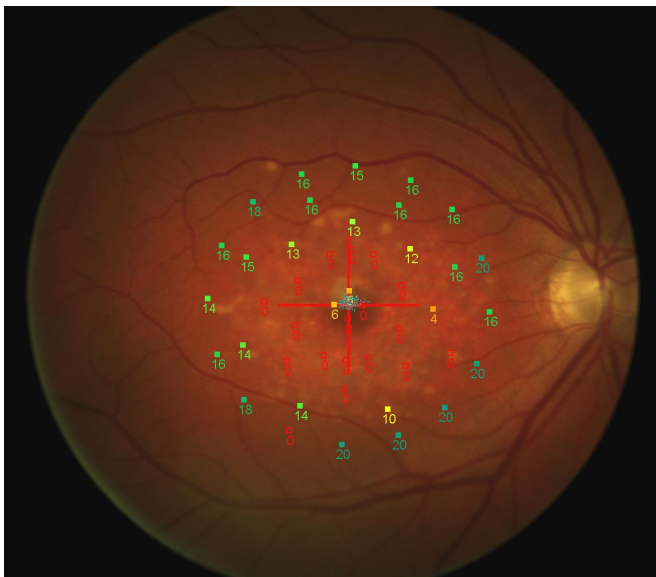


Abb. 21 MP1-Untersuchung der Patientin 1499_01 der Gruppe I

Man erkennt eine zentrale Fixation (blaue Punkte) sowie eine zentrale Empfindlichkeit von 6 dB, parazentral beträgt die Empfindlichkeit 0 dB und steigt in Richtung der peripheren Makula an. MP1 (Nidek Technologies, Padua, Italien), 4-2-Strategie, Marke Goldmann III, Testmuster „Makula FrC“, Fixierziel: Kreuz

Eine MP1-Untersuchung wurde bei 5 von 8 (62,5%) Patienten der Gruppe II durchgeführt. Es zeigten sich bei allen 5 untersuchten Patienten Zentralskotome, eine extrafoveale Fixation sowie eine Minderung der Lichtunterschiedsempfindlichkeit im gemessenen Gebiet. Anhand des Patienten 1827_01 (siehe Abb. 22) soll die Veränderung der MP1-Befunde über 4 Jahre beispielhaft dargestellt werden. Im Vergleich zum 12. Lebensjahr zeigte sich im Alter von 13 Jahren ein geringer Empfindlichkeitsverlust mit einer extrafovealen und unsicheren Fixation oberhalb der Fovea. Im Alter von 16 Jahren hatte sich die Fixationsstelle in einen Bereich temporal unterhalb der Papille verlagert und stellte sich dort ebenfalls als unsichere Fixation in der MP1-Untersuchung dar.

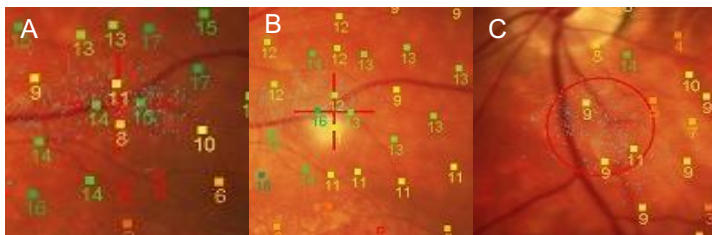
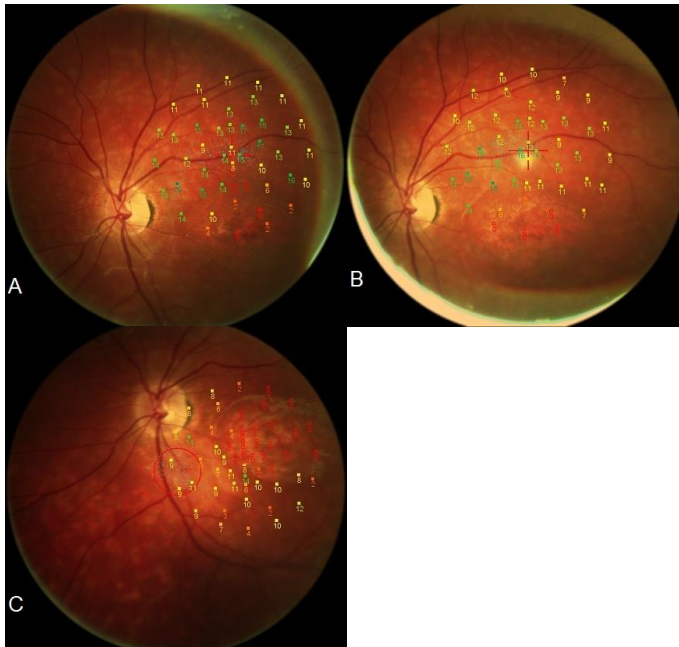


Abb. 22 MP1-Untersuchung bei einem Patienten der Gruppe II (1827_01) im zeitlichen Verlauf

A) Im Alter von 12 und B) 13 Jahren sieht man eine instabile extrafoveale Fixation am oberen temporalen Gefäßbogen. Die Lichtunterschiedsempfindlichkeit in der Fovea betrug 0 dB. C) Die Untersuchung im Alter von 16 Jahren zeigte eine Verlagerung der extrafovealen Fixation. Die Ausdehnung des Zentralskotoms hatte zugenommen; die Fixation befand sich unterhalb der Papille mit großer Streuung der Fixationspunkte. MP1 (Nidek Technologies, Padua, Italien), 4-2-Strategie, Marke Goldmann III, Testmuster „Makula FriC“, Fixierziel: Kreuz bzw. Kreis

Bei 5 Patienten der Gruppe III wurde eine funduskontrollierte Perimetrie durchgeführt. Es waren bei allen untersuchten Patienten deutliche Funktionsminderungen bis zum vollständigen Verlust der Empfindlichkeit erkennbar.

Die Ergebnisse der Funktionsmessungen gibt die Tabelle 6 wieder.

Tabelle 6: Funktionelle Daten der Patienten

Patient-ID	Alter	Ganzfeld-ERG	Multi-fokales ERG	Goldmann 90°	MP1
0138.04	62	p/s A/Lt: opB	↓ /→ (zH)	opB	(-)
Gruppe I					
0138.01	30	s: A 50%, Lt opB, OPs opB, p: A +/-, Lt opB	↓↓ (zH)	III4 Ag opB, bF opB, L I1,I2,I3, I4 opB R I1 o 5°Zs sonst wie L	(-)
0504.01	35	p/s: opB	↓ (zH)	bis I2 opB, bF opB	eF/Zs, GIII↓
1499.01	53	p/s: opB	↓ (zH)	Zs I4:10°, bF opB, III4, I4, I3, I2 opB	zF/ Pzs, GIII↓
2160.01	19	p/s: A/Lt: opB	↓ (zH)	(-)	(-)
2479.01	7	p: A+/-, Lt: opB	nb (Koop)	kE für III4, (Koop!)	(-)
2557.01	19	(-)	(-)	(-)	(-)
	20	p/s A: L +/- R opB, Lt: opB	R↓, L↓↓ (zH)	Bis I2 opB, bF opB	R eF/ Zs, GIII ↓
2557.04	29	p: A/Lt: opB; 2011 extern: p/s: opB, OPs: opB	↓ (zH)	(-)	(-)
2678.01	10	p/s: opB	nb (Koop)	kein Zs, bF opB, III4, I4, I3, I2 opB	(-)
2689.01	29	p/s: opB	↓ (zH)	(-)	R (-), L eF/ Zs, GI↓↓, GIII↓
Gruppe II					
0483.01	16	s: A 50%, p:20%	(-)	rZs für <I4, kE III4	(-)
	19	s: 50%, b/aQ opB, p:10%	↓↓↓	gleich zu 2009	R: eF/ Zs, GIII↓↓um 0dB
1827.01	11	R/L s: b/aQ↓, A/Lt: opB, OPs 30%, p: A 50-30%	kkP	(-)	(-)

	12	(-)	(-)	III4, I4, I3, I2 opB, Zs I1	Zs, eF, GIII↓, p +/-
	13	s: A R +/- ,L 50%, Lt↔↔↔, OPs idem zu 2009, p: A 25%	kkP	III4, I4 opB, Zs I2	Zs, eF, GIII↓, p +/-
	15	(-)	(-)	(-)	(-)
	16	s: A R 30%, L 25%, p: 20% ,Lt: p/s: ↔↔↔	(-)	Ag opB, Zs I2	Zs, eF, GIII↓
1827.04	9	s: A/Lt opB,OPs opB, p: A 50%	z ↓ (kP)	bF opB, III4, I4, I3, I2 opB, Ag opB	Zs,eF, GIII↓
	10	(-)	(-)	bF↑, Zs I2, Ag opB	Zs, eF, GIII ↓
	12	(-)	(-)	(-)	(-)
	13	s: A R uNg, L 50%, Lt ↔, p: bW 5-10%, aW weniger↓	(-)	R>L: Zs für I3, Ag opB	Zs, eF, GIII ↓↓
2018.01	11	s: A 20%,Lt opB bis +/-, p: A 10%, Lt ↔↔↔	(-)	rZs I4 R10°,L5° Ag III4↓	(-)
	12	(-)	(-)	(-)	Zs, eF, GIII ↓
	15	(-)	(-)	Zs ab I3; Ag V4,III4↓,I4 auf 5°↓	Zs, eF, GV ↓↓
2192.01	32	s: A/Lt opB, OPs +/-, p: 50%	(-)	III4: Zs R10°, L7°	(-)
	33	(-)	(-)	(-)	(-)
2203.01	12,4	(-)	(-)	R rZs I3, Zs10°I2, Ag opB L Zs kleiner	(-)
	12,9	p/s A 60%, Lt opB	z ↓ (kP)	Zs 10°I3, Ag opB	(-)
	13	(-)	(-)	Zs 10°I2, Ag opB	(-)
	15	s: A 50%, Lt opB p: A 50%, Lt opB	L>R ↓(zH)	Zs 10°I2, Ag opB	(-)

	16	(-)	(-)	(-)	GIII 0dB Mac, p besser
2400.01	24	p/s: opB	↓ (zH)	III4, I4, I3 opB	(-)
	26	(-)	(-)	Zs R20°, L30° III4e, Ag opB	(-)
2709.01	33	(-)	↓	Zs	(-)
Gruppe III					
0033.01	32	s: A/Lt opB, p: A 50%, Lt opB	L> R ↓↓	Zs 20-30° I2	Zs, eF
	34	s/p: A R>L 50%, Lt opB	↓↓	Zs 20-30° I2	R eF, GIII 0dB
	35	s: A R>L 50%, Lt +/-, p: A 50%, Lt opB/ insgesamt ↓	↓↓↓	Zs 20° I2	(-)
1087.01	13	s: A 50%, p: A ↓↓↓	(-)	r Zs I4, Ag opB	(-)
	17	s: A 40% Lt ↔, p: A ↓↓↓	(-)	rZs II4 (R15-20°,L 30°), Ag opB	(-)
1348.01	16	s: A 70% Lt opB, p: A 30% Lt: opB	Fix! kkP	Zs 10°III4, Ri I4 30- 40° temp+inf, R10° inf, L10°temp., Ag↓	eF/ Zs, GIII R 0dB, L etw. besser
	17	s: A 40%, L↔, p: A 50%, L↔	(-)	(-)	(-)
1882.01	25	s: A 50%, Lt ↔, b/a opB, p: ↓↓↓	kkP bis↓↓↓	R Zs (o7°,r12°,u20°,l15°) L Zs (o11°,r18°,u10°,l8°)	R 0dB, L keine Fixation mgl.
	27	s: A 25%, L↔↔, p: ↓↓↓	(-)	R Zs I4 (o18°,r12°,u30°,l35°), L Zs III4 (o10°,r25°,u32°,l7- 20°), Ag↓	(-)

2101.01	59	s: opB, OPs↓, p: opB	↓ (z. H.)	L:Zs I3 R5° L10°, kE III4	(-)
	62	s: A +/-, OPs 50%, Lt opB, b/a opB, p: L>R A 50%, Lt opB	(-)	R/L: Zs I3 5° (L:Ri), kE III4	(-)
	63	(-)	(-)	R Zs I3 (o10°,r19°, u10°,l15°),L (o15°, r15°,u13°,L19°), Ag↓	eF/ Zs,
2394.01	31	p/s: ↓↓↓	Z ↓↓↓, kkP	Zs V4 R70-50° L70- 40°	(-)
	35	(-)	(-)	Zs V4 R80-70° L90- 60°	nb (Fix)
2678.02	37	s: p 30%, b/aQ opB, p: A 20%	kkP	Zs (R40°bis50°, L70°)	(-)

Pzs: Parazentralskotom, Ri: Restinsel, Zs: Zentralskotom, rZs: relatives Zentralskotom, eF: extrafoveale Fixation, GIII/GV: Marke Goldmann III/V zH : zentrale Hexagone, nb (Koop)/(Fix): wegen einer geringen Kooperation/schlechten Fixation nicht bewertbar, kkP: keine korrelierten Potentiale, kP: korrelierte Potentiale, uNg: untere Normgrenze (+/-), ↓↓↓: sehr fortgeschritten bzw. unter der Nachweisgrenze, o: oben, r: rechts, u: unten, l: links, kE: konzentrische Einengung, Z: Zapfen, S: Stäbchen, Ri: Restinsel, ERG: p: photopisch, s: skotopisch, A: Amplituden (+/- an der unteren Normgrenze, % Prozentwert der Mittelnorm), Lt: Latenzen (opB: ohne pathologischen Befund, +/- an der unteren Normgrenze, ↔ verlängert, ↔↔ deutlich verlängert), aW: a-Welle, bW: b-Welle, OPs: oszillatorische Potentiale, b/aQ: b/a-Quotient, R: rechtes Auge, L: linkes Auge, s.o.: siehe oben, ↑:erhöht, →: nicht verändert, (-): nicht durchgeführt, ↓: erniedrigt, temp: temporal, inf: inferior, Mac: Makula

3.2.6 „Foveal sparing“-Phänomen

Als „foveal sparing“ wird ein Phänomen bezeichnet, bei dem Patienten trotz fortgeschrittenen pathologischen Netzhautveränderungen eine unerwartet geringe Visusminderung aufweisen.

Charakteristisch sind die gut erhaltene Schichtung der äußeren Retina in der Fovea (Fujinami et al. 2011) und ein noch wenig verändertes Signal der Fundusauto-fluoreszenz in der zentralen Netzhaut. Das Vorhandensein der tubulären Struktur der zentralen Netzhaut kommt im „foveal sparing“-Phänomen im Vergleich zu dem typischen Morbus Stargardt öfter vor (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013).

In dem Patientengut dieser Arbeit fand sich dieses Phänomen bei 2 Patienten der Gruppe I (2557_04, 1499_01) im Alter von 29 und 53 Jahren sowie einer Erkrankungsdauer von weniger als einem Jahr bzw. 23 Jahren. Weiterhin trat dies bei 4 Patienten der Gruppe II (1827_04, 2203_01 – nur am linken Auge, 2400_01, 2709_01) im Alter von 9 Jahren, 12 Jahren, 24 Jahren und 33 Jahren und einer Erkrankungsdauer von unter einem Jahr bis zu 6 Jahren auf. Dieses Phänomen war auch bei einer Patientin der Gruppe III (2101_01) im Alter von 59 Jahren sowie einer Erkrankungsdauer von 11 Jahren zu beobachten. Diese Patientin der Gruppe III wies zentral eine tubuläre Netzhautstruktur (retinal tubulation) auf. Es wurde bereits als kreisförmige Struktur, die hyperreflektives Material (vermutlich malformierte Photorezeptorenaußensegmente) enthält, beschrieben (Goldberg et al. 2013). Curcio und Kollegen beobachteten in ihren histopathologischen Untersuchungen, dass sich überlebende Photorezeptoren in solche Strukturen reorganisieren (Curcio et al. 1996). Die Sehschärfe der o.g. Patienten ist aus Tabelle 7 ersichtlich, Abb. 23 zeigt die gut erhaltene foveale Schichtung.

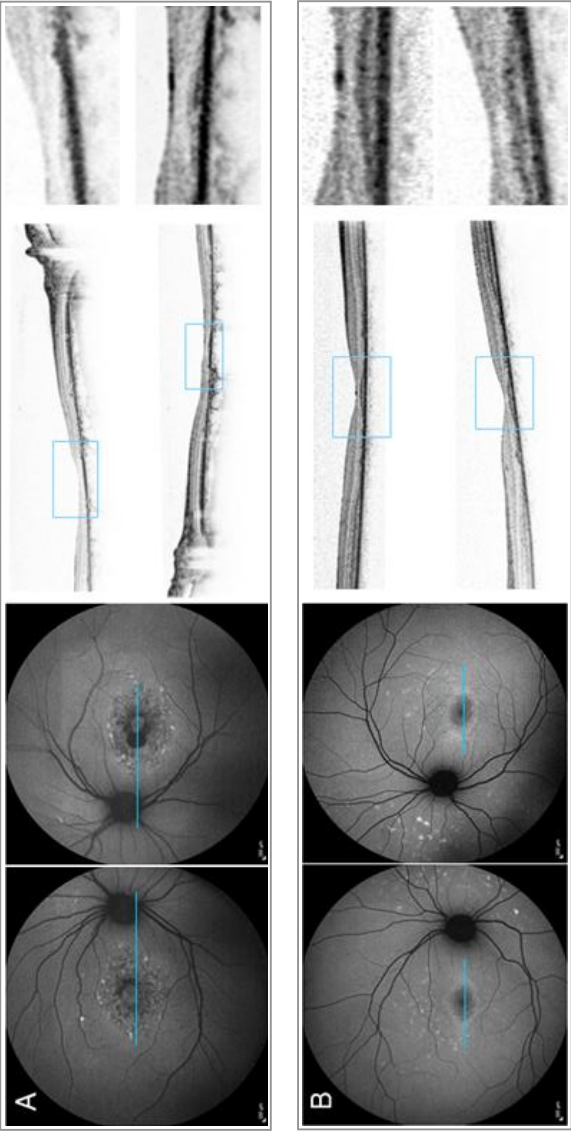
Von den 7 Patienten wurden 5 im Verlauf beobachtet. Alle 5 Patienten wiesen bei Ihren nächsten Kontrolluntersuchungen kein „foveal sparing“-Phänomen mehr auf.

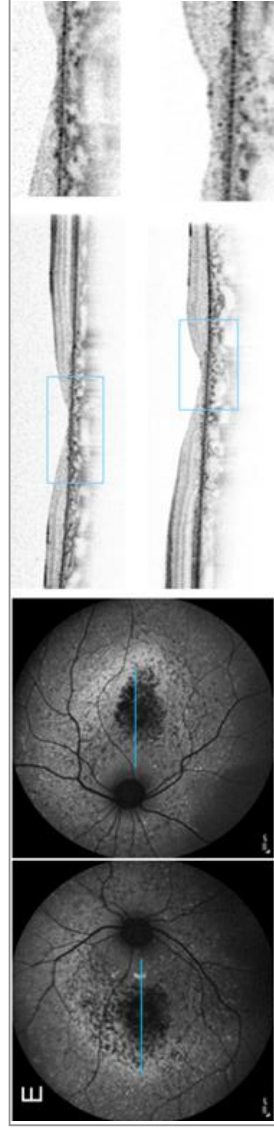
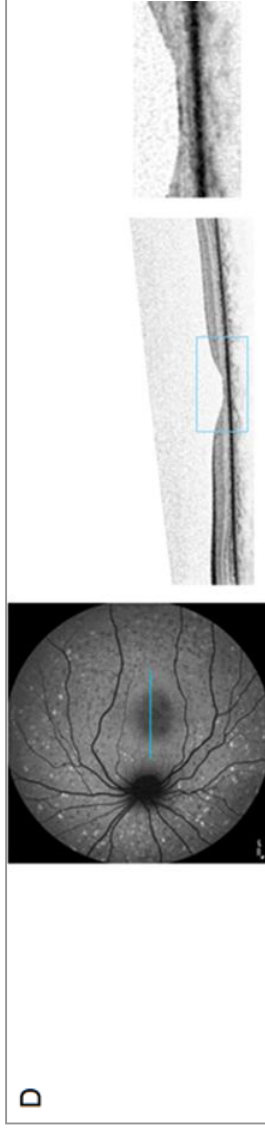
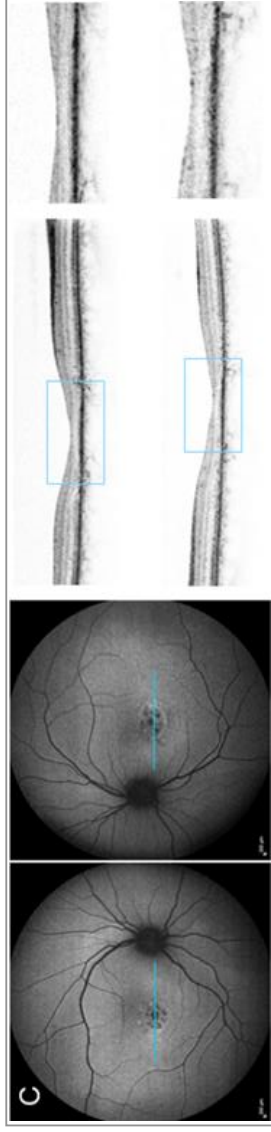
Tabelle 7: „foveal sparing“-Phänomen bei dem Patientenkollektiv

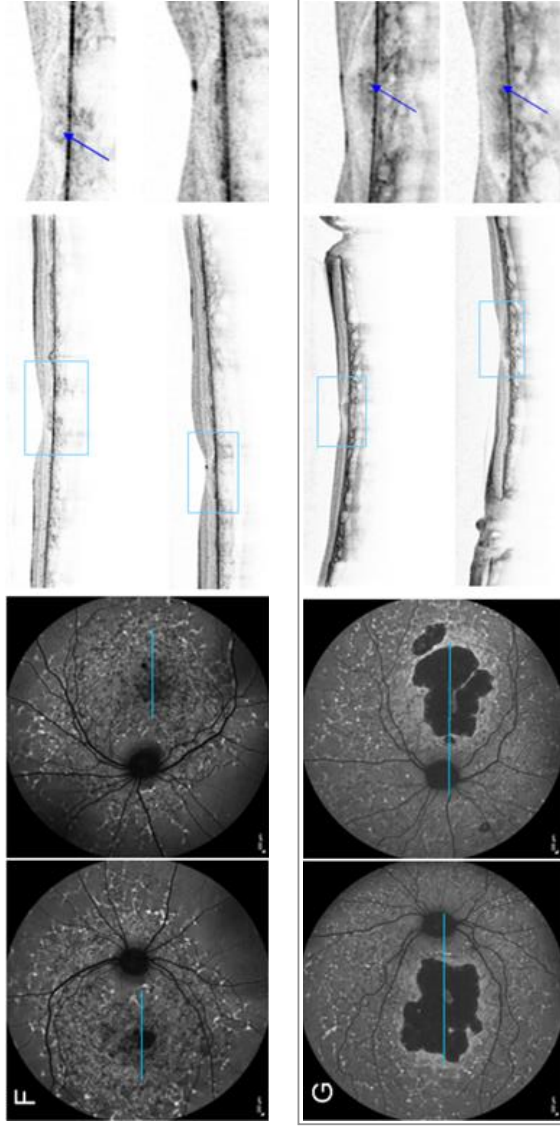
Gruppe	Patienten ID	logMAR RA	logMAR LA	Alter (Jahre)	Erkrankungsdauer (Jahre)
I	1499.01	0,4	0,4	53	23
I	2557.04	0,1	0,3	29	<1
II	1827.04	0,3	0,2	9	1
II	2203.01	1,3 (kein "foveal sparing")	0,2	12	<1
II	2400.01	0,3	0,2	24	6
II	2709.01	0,2	0	33	<1
III	2101.01	0,4	0,4	59	11

Abb. 23 FAF- und OCT-Bilder der Patienten von A – G (1499_01, 1827_04, 2557_04, 2203_01, 2400_01, 2709_01, 2101_01) mit „foveal sparing“-Phänomenen sowie MP1-Darstellung des zentralen Fundus mit Überlagerung der Fundusautofluoreszenz der Patienten A und B (Farbfundusphotographien ganz unten)

Man erkennt in den OCT-Aufnahmen eine erhaltene foveale Struktur und in den Autofluoreszenz-Aufnahmen eine relativ normale Intensität der FAF zentral bei erheblichen Veränderungen der Umgebung. Bei den Patienten 2709_01 und 2101_01 sind retinale tubuläre Strukturen zu sehen (Pfeile). In der Darstellung zur Überlagerung der MP1-Daten mit der Fundusautofluoreszenz ist die positive räumliche Korrelation der erhaltenen zentralen Autofluoreszenz (im Sinne des „foveal sparing“) mit der ortskodierten Empfindlichkeit in der funduskontrollierten Perimetrie zu erkennen. Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland).

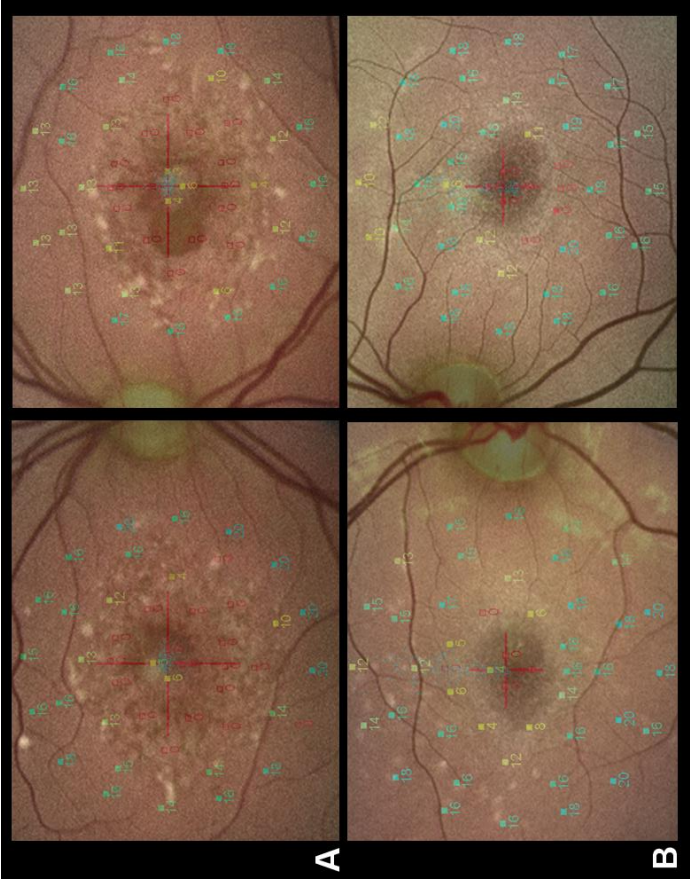






In der Darstellung zur Überlagerung der MP1-Daten mit der Fundusautofluoreszenz ist die positive räumliche Korrelation der erhaltenen zentralen Autofluoreszenz (im Sinne des „foveal sparing“) mit der orfskodierten Empfindlichkeit in der funduskontrollierten Perimetrie zu erkennen, welche zentral ebenfalls noch relativ hoch ist.

A) Patient 1499_01, B) Patient 1827_04.



3.3 Datenumfang des SD-OCT als Grundlage für die Segmentierung mit der DiOCTA-Software

Bei 13 Patienten (0138_01, 0138_04, 0504_01, 1499_01, 2160_01, 2192_01, 2394_01, 2479_01, 2557_04, 2678_01, 2678_02, 2689_01, 2709_01) wurde einmalig ein SD-OCT-Volumenscan durchgeführt. Bei 6 Patienten (0483_01, 1087_01, 1348_01, 1882_01, 2400_01, 2557_01) wurden ein SD-OCT-Volumenscan als Erstuntersuchung sowie eine einmalige Verlaufsuntersuchung durchgeführt. Bei weiteren 6 Patienten (0033_01, 1827_01, 1827_04, 2018_01, 2101_01, 2203_01) wurde ein initialer Volumen-Scan mit zwei oder mehr Verlaufsuntersuchungen durchgeführt. Insgesamt wurden 86 C-Scans ausgewertet.

Die Zahl der A-Scans pro B-Scan betrug standardmäßig 1.024 (mit einzelnen Ausnahmen von 512 und 1.536 A-Scans pro B-Scan). Die Anzahl der B-Scans bei einem C-Scan betrug standardmäßig 19; in Ausnahmen (n = 21 C-Scans) wurden 14 bis 49 B-Scans pro C-Scan durchgeführt. Die Distanz zwischen den einzelnen B-Scans variierte abhängig von der Zahl der B-Scans und der Breite der C-Scans zwischen 0,11 und 0,27 mm.

3.4 Läsionsgröße

Mit Hilfe der DiOCTA-Software war es möglich, den Flächeninhalt der zentralen Läsion zu bestimmen. Als Läsion im Sinne dieser Arbeit wurde ein Bereich mit fehlender ISe-Schicht definiert. Die Bestimmung der ISe-Schicht erfolgte manuell anhand der B-Scans. Als temporales Ende der Läsion wurde der A-Scan definiert, an dem die ISe-Schicht von der temporalen Seite nicht mehr erkennbar war (Abb. 24). Analog wurde das nasale Ende der Läsion durch den A-Scan auf der nasalen Seite definiert, an der die ISe-Schicht wieder zu erkennen war - diese Angaben gelten jeweils für das rechte Auge; die linken Augen wurden dementsprechend spiegelbildlich ausgewertet. Die genannte Auswertung wurde bei allen B-Scans durchgeführt. Die Werte aufeinander folgender B-Scans wurden gemittelt und damit die Flächenberechnung der Läsion über den Abstand der B-Scans zueinander berechnet.

Die Erkennbarkeit der ISe-Schicht wurde anhand ihrer Durchgängigkeit in drei qualitative Stufen eingeteilt.

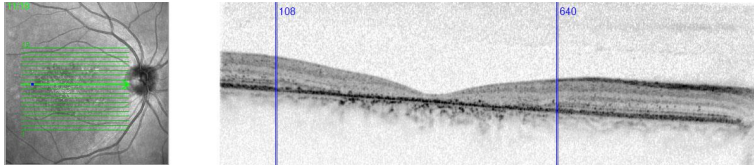


Abb. 24 Bestimmung der Grenze der ISe-Schicht mit DiOCTA

Das Bild stellt das rechte Auge der Patientin 1499_01 dar (links Übersicht, rechts B-Scan). Ab dem A-Scan Nr.108 (links auf dem B-Scan) ist die ISe-Schicht nicht mehr zu erkennen; somit ist diese Stelle als das temporale Ende der Läsion definiert. Ab dem A-Scan Nr. 640 wird die ISe-Schicht wieder sichtbar und markiert damit das nasale Ende der Läsion (rechts auf dem B-Scan). Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

Insgesamt war eine Läsionsgrößenbestimmung in Gruppe I bei 20 C-Scans von 9 Patienten, in Gruppe II bei 26 C-Scans von 8 Patienten möglich. In Gruppe III war die Ausdehnung der Läsion bei allen 7 Patienten (13 C-Scans) größer als der Bereich des C-Scans. In diesen Fällen wurde der Läsion eine Fläche von 28 mm² zugeordnet, also die maximale Fläche des gesamten C-Scans. Die Berechnung der medianen Läsionsgröße bezieht sich somit auf die Ausdehnung der Läsion im untersuchten Netzhautbereich (Volumenscan mit 28 mm² Fläche). Anteile der Läsionen außerhalb des Volumenscans (in denen folglich keine B-Scans vorlagen) konnten verständlicherweise nicht in die statistische Auswertung einfließen.

Bei einem Patienten der Gruppe I und bei 4 Patienten der Gruppe II war eine Beobachtung des zeitlichen Verlaufs möglich. Die Ergebnisse wurden den Gruppen zugeordnet und mit anderen Parametern (Visus, Alter bei der Untersuchung, Dauer der Erkrankung) verglichen (Abb. 26 - 29). Soweit es mehrere Untersuchungen zu den jeweiligen Patienten gab, wurden diese separat in den Diagrammen dargestellt und in die Berechnungen aufgenommen. Der Median der Läsionsgröße der Patienten der Gruppe I betrug 7,7 mm² (SD 8,5; 2,54 - 28 mm²). Der Median der Läsionsgröße der Patienten der Gruppe II lag bei 15,1 mm² (SD 10,6; 9,46 - 28 mm²). Allen Patienten der Gruppe III wurde eine Läsionsgröße von 28 mm² zugeordnet.

Bei 8 von 59 (13,6%) C-Scans betrug die Läsionsgröße bis zu 5 mm². 19 von 59 (32,2%) C-Scans hatten eine Läsionsgröße zwischen 5 mm² und 15 mm². Bei 32 von 59 (54,2%) C-Scans betrug die Läsionsgröße über 15 mm².

Die Ergebnisse der Läsionsgröße im Vergleich mit dem Visus der Patienten der Gruppen I, II und III sind in Abb. 25 dargestellt. Die Erhebung dieser Daten erfolgte für 59 C-Scans (von 9 Patienten der Gruppe I, 20 C-Scans; 8 Patienten der Gruppe II, 26

C-Scans und 7 Patienten der Gruppe III, 13 C-Scans). Der mittlere Visus betrug 0,1 (1,0 logMAR), (Median 1,0; SD 0,5; 0,1 - 1,3 logMAR). Der Median der Läsionsgröße betrug 18,5 mm² (SD 10,7; 2,54 - 28 mm²).

Abb. 25 zeigt, dass sich der Visus bei Patienten mit einer Läsionsgröße von mehr als 5 mm² bereits im Bereich zwischen 1,0 und 1,3 logMAR befand. Die Patienten mit kleineren Läsionsgrößen wiesen tendenziell noch etwas bessere Sehschärfenwerte auf, wobei auch hier (soweit kein „foveal sparing“ bestand) der logMAR-Visus > 0,5 lag. Lediglich Patienten mit einem „foveal sparing“-Phänomen zeigten eine gute Sehschärfe unabhängig von der Läsionsgröße und unabhängig von der Zugehörigkeit zu einer der drei Gruppen.

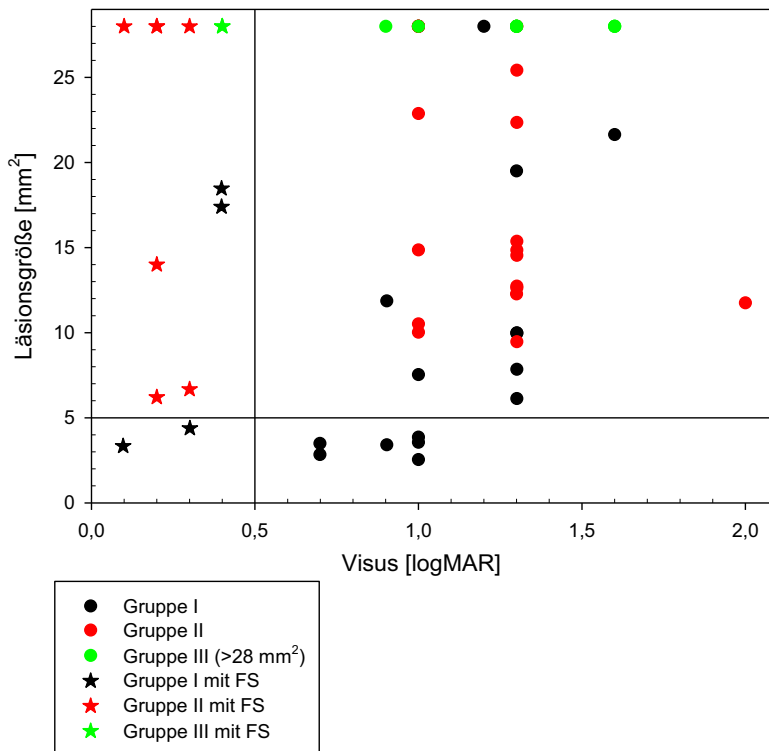


Abb. 25 Visus im Vergleich zur Läsionsgröße

Gruppe I, schwarz markiert (n = 20 C-Scans), Gruppe II, rot markiert (n = 26 C-Scans), Gruppe III, grün markiert (n = 13 C-Scans). Patienten mit „foveal sparing“-Phänomen sind mit einem Stern verzeichnet. Patienten ohne „foveal sparing“-Phänomen sind mit einem Punktsymbol abgebildet.

Abb. 26 stellt die Läsionsgröße im Vergleich zum Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung dar. Es wurden 59 C-Scans ausgewertet. Das mittlere Alter der Patienten zum Untersuchungszeitpunkt betrug 23 Jahre (Median 20; SD 13; 7 - 53 Jahre). In der beschriebenen Darstellung kann man zusätzlich die Läsionsgröße separat für das rechte und das linke Auge eines Patienten beurteilen. Daraus ergibt sich, dass die Größe der Netzhautveränderungen eines Patienten im Vergleich beider Augen keinen wesentlichen Unterschied aufzeigt.

In dieser Darstellung lässt sich ein Zusammenhang zwischen dem Alter des Patienten und der Läsionsgröße darlegen. Die Patienten der Gruppe II waren insgesamt jünger und hatten größere Läsionen als Gruppe I. Auffällig war, dass bereits bei jungen Patienten (≤ 15 Jahre) oft relativ große Läsionen bestanden. Die Patienten der Gruppe III hatten altersunabhängig große Läsionen. Bei Patienten mit dem „foveal sparing“-Phänomen zeigte sich keine Korrelation zwischen der Läsionsgröße und dem Alter zum Untersuchungszeitpunkt.

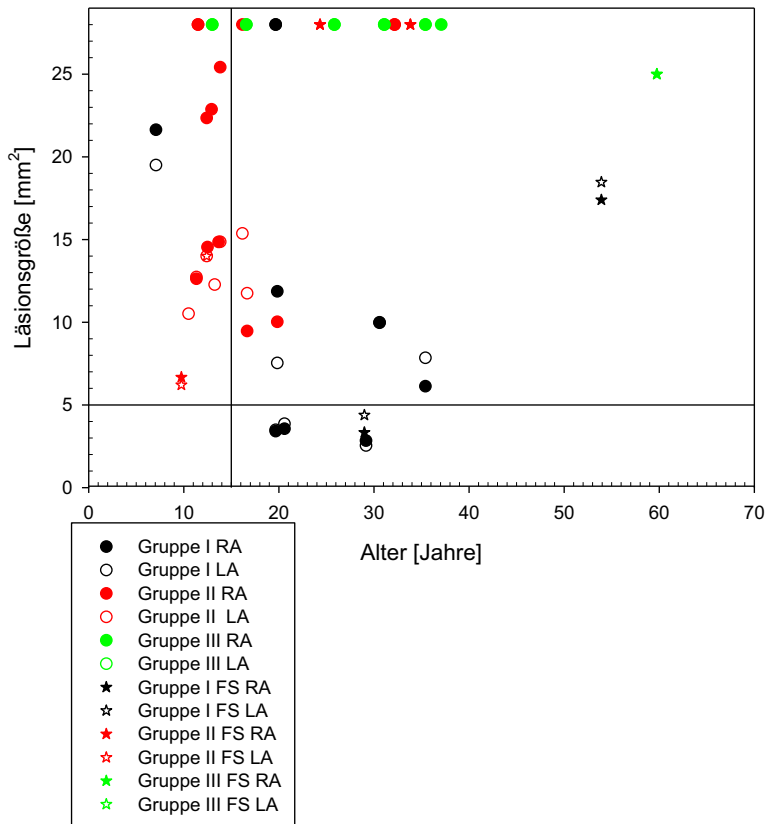


Abb. 26 Läsionsgröße im Vergleich zum Alter der Patienten (Querschnittsdaten)

Die Gruppe I ist schwarz, die Gruppe II rot, die Gruppe III grün dargestellt; Patienten mit dem „foveal sparing“-Phänomen sind mit einem Sternsymbol abgebildet; Patienten ohne „foveal sparing“-Phänomen sind mit einem Punktsymbol abgebildet; rechtes Auge: gefülltes Symbol, linkes Auge: offenes Symbol.

Abb. 27 stellt die Läsionsgröße der Erkrankungsdauer gegenüber. Es wurden 56 C-Scans ausgewertet (in Gruppe I 20 C-Scans von 9 Patienten, in Gruppe II 26 C-Scans von 8 Patienten, in Gruppe III 10 C-Scans von 5 Patienten). Die Erkrankungsdauer betrug im Mittel aller Patienten 7 Jahre (Median 5; SD 6; 0 - 23 Jahre): bei Patienten der Gruppe I im Mittel 8,3 Jahre (Median 6,5; SD 6,6; 0 - 23 Jahre), bei Patienten der Gruppe II 3,9 Jahre (Median 3; SD 4,2; 0 - 17 Jahre), bei Patienten der Gruppe III 11,2 Jahre (Median 8; SD 6,6; 7 - 20 Jahre). Insgesamt lässt sich aus der Abb. 27

entnehmen, dass die Patienten der Gruppe II trotz einer kürzeren Erkrankungsdauer eine größere Läsion entwickelten. Es fanden sich hier häufig bereits bei einer Erkrankungsdauer ≤ 5 Jahren Läsionen $> 5 \text{ mm}^2$. Die Läsionen bei Patienten mit dem „foveal sparing“-Phänomen waren unabhängig von der Gruppenangehörigkeit unterschiedlich groß.

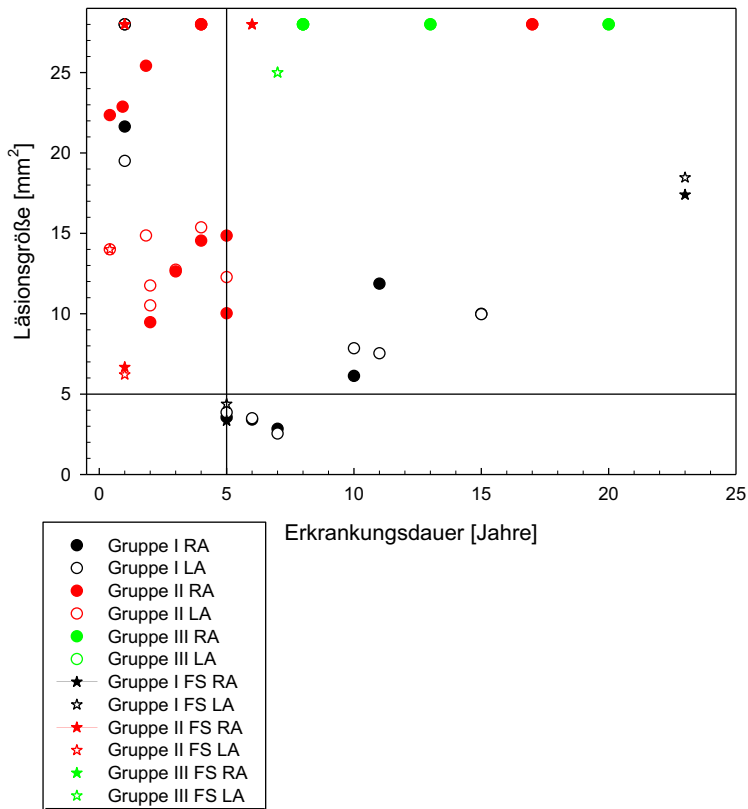


Abb. 27 Läsionsgröße im Vergleich zur Erkrankungsdauer

Die Gruppe I ist schwarz, die Gruppe II rot, die Gruppe III grün dargestellt. Patienten mit dem „foveal sparing“-Phänomen sind mit einem Sternsymbol verzeichnet. Patienten ohne „foveal sparing“-Phänomen sind mit einem Punktsymbol abgebildet; rechtes Auge: gefülltes Symbol, linkes Auge: offenes Symbol.

Abb. 28 stellt eine direkte Verlaufsbeobachtung der Läsionsgröße bei Patienten dar, die mehrere SD-Volumenscans im Verlauf von bis zu fünf Jahren erhielten. Dies war bei einem Patienten der Gruppe I (4 C-Scans) sowie 4 Patienten der Gruppe II (19 C-Scans) möglich. Sowohl in der Gruppe I als auch in der Gruppe II konnte man eine Zunahme der Läsionsgröße im zeitlichen Verlauf beobachten. Das Patientenalter zum Zeitpunkt der Untersuchung lag zwischen 9 und 20 Jahren und die Läsionsgröße zwischen 3,4 mm² und 28 mm². Anhand der ausgewerteten Daten konnte festgestellt werden, dass die Patienten der Gruppe II bei größeren Läsionen jünger als der Patient der Gruppe I waren. Alle Läsionen nahmen in dem beobachteten Zeitverlauf zu. Die Steigung schien nach wenigen Jahren der Progression abzunehmen.

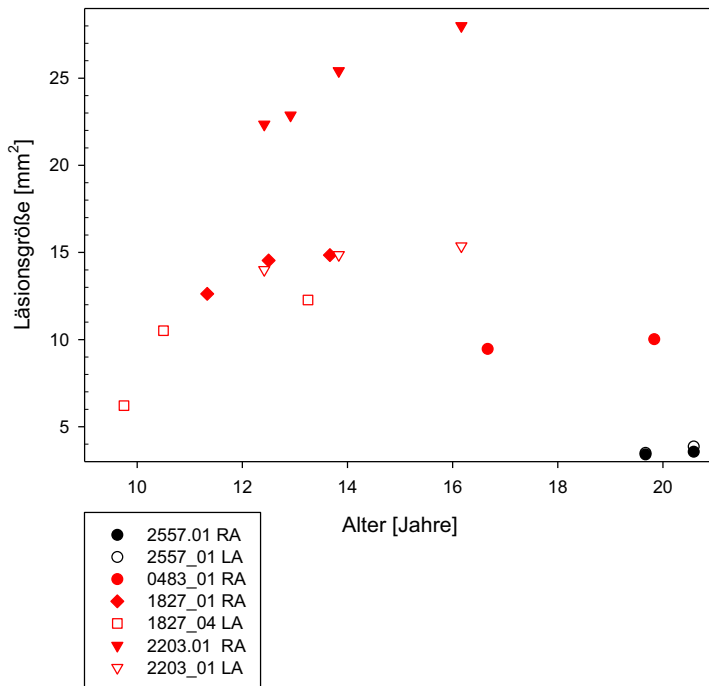


Abb. 28 Läsionsgröße im Vergleich zum Alter der Patienten im zeitlichem Verlauf (longitudinale Daten)

Die Gruppe I ist schwarz, die Gruppe II rot dargestellt. Rechtes Auge: gefülltes Symbol, linkes Auge: offenes Symbol.

3.5 OCT-Auswertung mit Hilfe der DiOCTA-Software

Bei den 86 Volumen-Scans von den 25 Patienten wurden automatisch 5 Schichten bzw. Schichtgruppen (6 Konturen) segmentiert (1.817 B-Scans). Bei 15 Patienten (9 Patienten der Gruppe I, 5 Patienten der Gruppe II und Patientin 0138_04; 56 Volumenscans) war nach der manuellen Korrektur die Berechnung aller 5 Schichten bzw. Schichtgruppen (1.131 B-Scans) möglich (Abb. 29, Abb. 29 A). Bei 10 Patienten (3 der Gruppe II, 7 der Gruppe III; 27 Volumenscans) war lediglich eine Berechnung der Dicke der gesamten Netzhaut möglich, da die Erkrankung hier bereits sehr weit fortgeschritten war. Somit war die Einteilung in einzelne Schichten aufgrund des Kontrastverlustes durch das veränderte Reflexionsverhalten der Netzhaut nicht mehr möglich (Abb. 29 B). Von diesen 10 Patienten ließ sich lediglich bei 3 Patienten der Gruppe II (5 Volumenscans) und 2 Patienten der Gruppe III (5 Volumenscans) die NFL-Schichtdicke zusätzlich manuell auswerten.

Sowohl bei der automatisierten als auch bei der manuellen Segmentierung wurden die Konturen über den gesamten B-Scan hinweg bestimmt (Abb. 29).

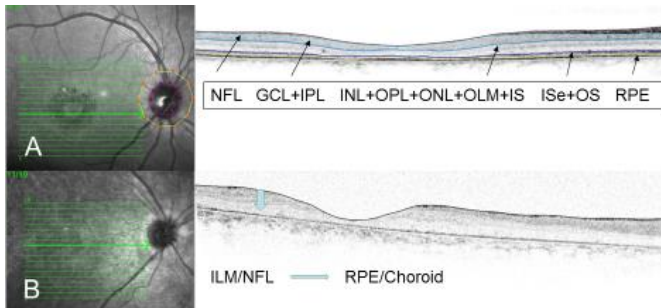


Abb. 29 Beispiele für die Auswertung eines OCT-B-Scans inkl. der Netzhautschichtvermessung mit Hilfe der DiOCTA-Software

A) Auswertung der 5 Schichten / Schichtgruppen beim Patient 2557_04. Die Schichten werden wie folgt zusammengefasst: NFL, GCL+IPL, INL+OPL+ONL+OLM+IS, ISe+OS und RPE.
 B) Auswertung der gesamten Netzhautdicke mit Hilfe von zwei Konturen bei Patient 1087_01, wenn aufgrund des Reflexionsverhaltens eine Auswertung von 5 Schichten / Schichtgruppen nicht möglich war.
 NFL: Nervenfaserschicht, GCL: Ganglienzellschicht, IPL: innere plexiforme Schicht, INL: innere Körnerschicht, OPL: äußere plexiforme Schicht, ONL: äußere Körnerschicht, OLM: Membrana limitans externa, IS: Photorezeptorinnensegment, ISe: Innensegment-Ellipsoid, OS: Photorezeptoraußensegment, RPE: Retinales Pigmentepithel. Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland)

Die Schichtdicken wurden bildlich mittels der Thickness-Map-Funktion (Abb. 30) dargestellt und numerisch über das ETDRS-Grid-Muster (Abb. 10, Abb. 30) ausgewertet. Als Mittelpunkt des ETDRS-Grids wurde manuell die Fovea definiert (F), so dass der C-Scan der Makula den ETDRS-Grid-Sektoren makulär (MS, MT, MI, MN), und peripher superior, temporal, inferior, nasal (PS, PT, PI, PN) zugeordnet werden konnte und damit eine ETDRS-Grid-bezogene Auswertung der Schichtdicke möglich war. Die Sektoren, bei denen der C-Scan weniger als 80% der Fläche abdeckte, wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt (Abb. 30, Sektor PI).

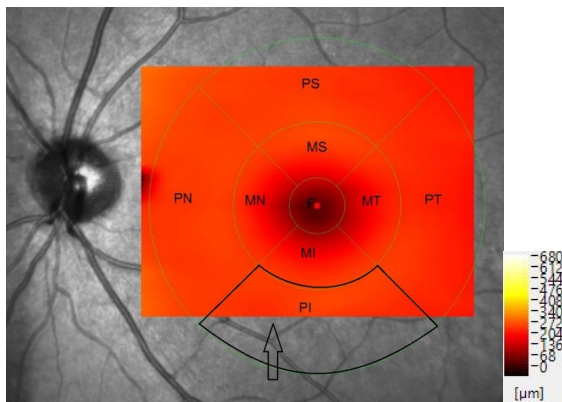


Abb. 30 Beispiel einer 30°-Infrarotaufnahme des Augenhintergrundes der Patientin 2557_01 (Spectralis, Heidelberg Engineering) mit eingeblendeter Falschfarbendarstellung der Dickenverteilung der (mit Hilfe der DiOCTA Software) gemessener Netzhautgesamtdicke (Thickness-Map) sowie zusätzlich dem ETDRS-Grid mit 9 Sektoren.

Sektoren: F: zentral, MS, MT, MI, MN: makulär: superior, temporal, inferior, nasal, PS, PT, PI, PN: peripher: superior, temporal, inferior, nasal. Der periphere inferiore Sektor (Pfeil) wurde aufgrund der unvollständigen Abdeckung durch den C-Scan in der Beurteilung nicht berücksichtigt. Der periphere superiore Sektor wurde für die Auswertung zugelassen, da mehr als 80% der Fläche abgedeckt waren.

Die Verteilung der Schichtdicke in den 9 ETDRS-Grid-Sektoren geben die nachstehenden Abbildungen wieder. Die Netzhautschichtdicke der NFL- und RPE-Schicht sowie die Schichtgruppen GCL+IPL, INL+OPL+ONL+OLM+IS, ISe+OS und die gesamte Retinadicke wurden separat ausgewertet. Die Patienten wurden nach Gruppen eingeteilt.

In der Gruppe I war die Auswertung bei allen 20 C-Scans der 9 Patienten mit dem STGD-Algorithmus möglich (rot dargestellt). In der Gruppe II war die Auswertung bei

34 C-Scans von 5 Patienten mit diesem Algorithmus möglich (grün dargestellt). In der Gruppe III war bei keinem Patienten die Segmentierung der 5 Schichten möglich. Die Werte der Patientin 0138_04 (2 C-Scans) sind als schwarze Punkte dargestellt. Als Normwerte wurden Werte von Normprobanden (separat für Kinder und für Erwachsene) aus der Arbeit von Ehnes und Kollegen verwendet (Ehnes et al. 2014). Es wurden 63 Augen von Erwachsenen und 18 Augen von Kindern ausgewertet.

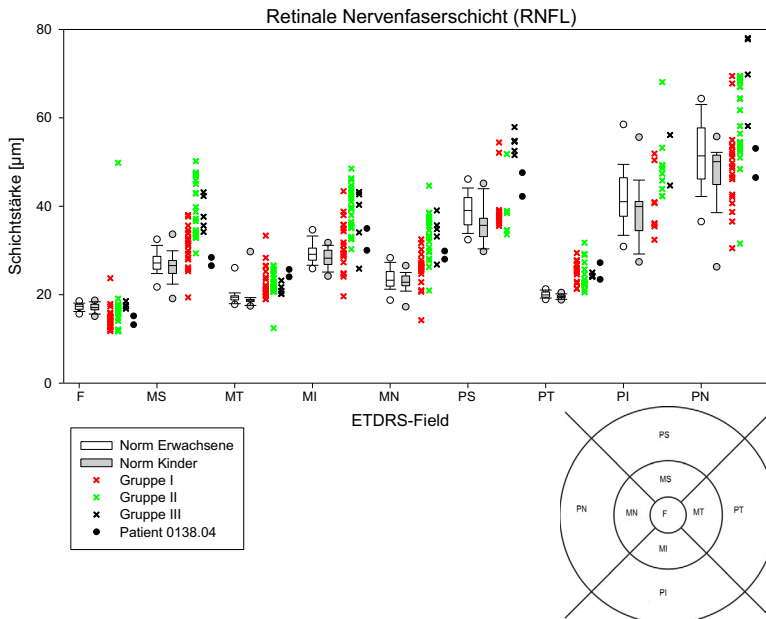


Abb. 31 Graphische Darstellung der Verteilung der mit Hilfe der DiOCTA-Software erhaltenen Schichtdicke der Nervenfaserschicht (NFL) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids

Die Boxplots geben die mittleren Dicken der Nervenfaserschicht für Normprobanden wieder (weiß: Erwachsene, grau: Kinder). Das Rechteck beschreibt den Datenbereich zwischen der 25. und 75. Perzentile mit dem Median (horizontale Linie innerhalb des Rechtecks). Die Balken markieren die 10. und 90. Perzentile. Die Punkte stellen die 5. und 95. Perzentile dar. Die Unterteilung erfolgt nach Patientengruppen: Gruppe I ist rot, Gruppe II grün, Gruppe III schwarz dargestellt. Die Patientin 0138.04 ist mit schwarzen Punkten dargestellt.

Detaillierte Angaben zur Dicke der Nervenfaserschicht gibt Abb. 31 wieder. Die NFL-Dicke stellt sich bei den Patientengruppen I und II sowie bei der Patientin 0138_04 (mit subklinischer Expression) im Vergleich zur Population der gesunden Probanden im zentralen Sektor (F) des ETDRS-Grids tendenziell erniedrigt dar. In den makulären

superioren, inferioren und nasalen Sektoren (MS, MI, MN) findet sich eine höhere Schichtdicke bei der Patientengruppe II gegenüber der Patientengruppe I und gegenüber dem Normkollektiv. In den makulären und peripheren temporalen Sektoren MT und PT ist sowohl bei der Patientengruppe I und der Patientengruppe II als auch bei Patientin 0138.04 (mit subklinischer Expression) die NFL-Dicke erhöht. In den restlichen Sektoren entspricht die Verteilung den Normwerten. In den temporalen Sektoren MT und PT stellt sich die Dicke der NFL-Schicht bereits physiologisch geringer im Vergleich zum peripheren nasalen Sektor dar, was sich aus dem Verlauf der Nervenfasern ergibt (Hood et al. 2009). Bei der hier von 2 Patienten repräsentierten Gruppe III ist die NFL-Schichtdicke in allen Sektoren (mit Ausnahme des fovealen Sektors) erhöht.

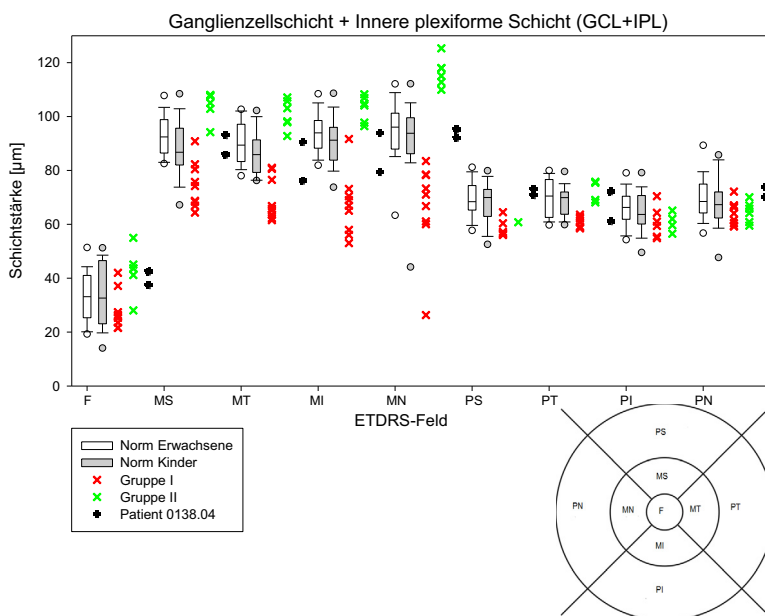


Abb. 32 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke der Ganglienzellschicht mit der inneren plexiformen Schicht (GCL+IPL) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids

Die Boxplots geben die mittleren Dicken der Schicht für Normprobanden (weiß: Erwachsene, grau: Kinder) wieder. Das Rechteck beschreibt den Datenbereich zwischen der 25. und 75. Perzentile mit dem Median (horizontale Linie innerhalb des Rechtecks). Die Balken markieren die 10. und 90. Perzentile. Die Punkte stellen die 5. und 95. Perzentile dar. Die Unterteilung erfolgt nach Patientengruppen: Gruppe I ist rot Gruppe II grün dargestellt. Die Patientin 0138_04 mit dem subklinischen Expression der Erkrankung ist mit schwarzen Punkten dargestellt.

Abb. 32 zeigt die Verteilung der Stärke der Schichtgruppe Ganglienzellschicht und innere plexiforme Schicht (GCL+IPL). Im zentralen Feld (F) liegt insgesamt im Vergleich zu den makulären und den peripheren Feldern eine deutlich niedrigere Schichtdicke bei den Normprobanden vor. Die Schichtdicke bei den Normprobanden ist in den perizentralen Sektoren größer als in den peripheren Sektoren. Im Vergleich der erhobenen Messwerte mit den Normwerten zeigen sich im zentralen Kreis sowie in den peripheren Sektoren PS, PI und PN keine Schichtdickenunterschiede. Demgegenüber bestehen deutliche Unterschiede in den Schichtdicken von Patientengruppe II zu Patientengruppe I in den makulären Sektoren (MS, MT, MI, MN) sowie in dem peripheren temporalen Sektor (PT). Hierbei lässt sich zeigen, dass die Schichtdicken der Patientengruppe I im Vergleich zu den Normwerten bis an die untere Normgrenze erniedrigt, die der Patientengruppe II bis an die obere Normgrenze erhöht sind. Die Patientin mit subklinischer Expression zeigt in allen Sektoren Werte im Normbereich.

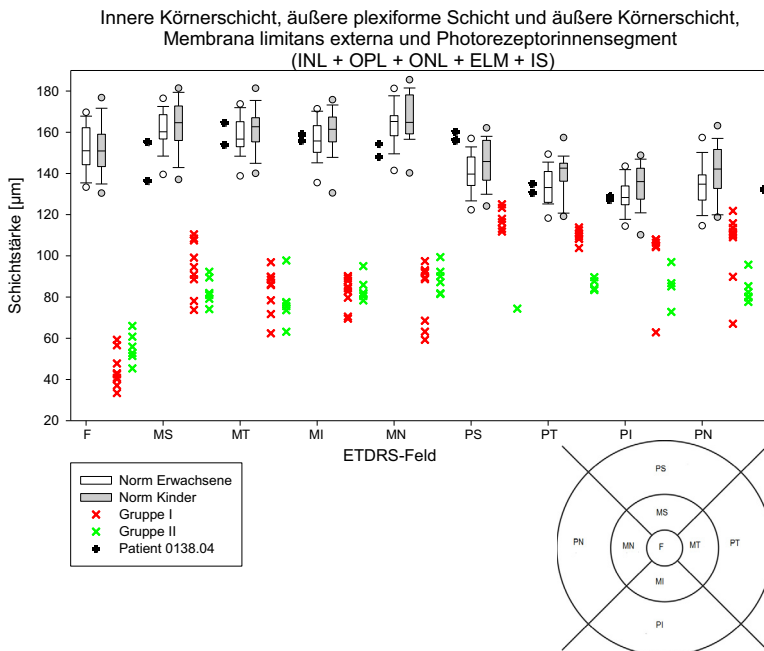


Abb. 33 Graphische Darstellung der Verteilung der mit Hilfe der DiOCTA-Software erhaltenen Schichtdicke der inneren Körnerschicht über die äußere plexiforme Schicht und äußere Körnerschicht mit Membrana limitans externa bis einschließlich Innensegment (INL+OPL+ONL+ELM+IS) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids

Die Boxplots geben die mittleren Dicken der Schichtgruppe für Normprobanden wieder (weiß: Erwachsene, grau: Kinder). Das Rechteck beschreibt den Datenbereich zwischen der 25. und 75. Perzentile mit dem Median (horizontale Linie innerhalb des Rechtecks). Die Balken markieren die 10. und 90. Perzentile. Die Punkte stellen die 5. und 95. Perzentile dar. Die Unterteilung erfolgt nach Patientengruppen: Gruppe I ist rot, Gruppe II grün dargestellt. Die Patientin 0138_04 mit subklinischer Expression ist mit schwarzen Punkten dargestellt.

In Abb. 33 ist die Verteilung der Schichtgruppe von der inneren Körnerschicht über die äußere plexiforme Schicht und äußere Körnerschicht mit Membrana limitans externa bis einschließlich zum Innensegment (INL+OPL+ONL+ELM+IS) abgebildet. Man kann eine geringere Dicke dieser Schichtgruppe bei Patienten der Gruppe I und II in allen Sektoren im Vergleich zur Normgruppe beobachten. Die Patientin mit subklinischer Expression zeigt Werte, die innerhalb der Werte der Normprobanden liegen.

Im zentralen Segment (F) wie auch in den makulären Segmenten (MS, MT, MI, MN) lassen sich bezüglich der Dicke der Schichtgruppen keine Unterschiede zwischen den Werten der Patientengruppe I und II erkennen. In den peripheren Segmenten des ETDRS-Grids ist zu erkennen, dass bei den Patienten der Gruppe II im Vergleich zu Patienten der Gruppe I eine geringere Schichtdicke vorliegt.

In dieser Betrachtung muss die Einschränkung beachtet werden, dass die Aufnahme von B-Scans nur in einem begrenzten Bereich möglich war. Die Läsionen reichten jedoch zum Teil deutlich über die Messbereiche hinaus.

Wie bereits oben beschrieben, wurden die Schichten dieser Schichtgruppe aufgrund der krankheitsbedingten Degeneration der Schichten zusammengefasst.

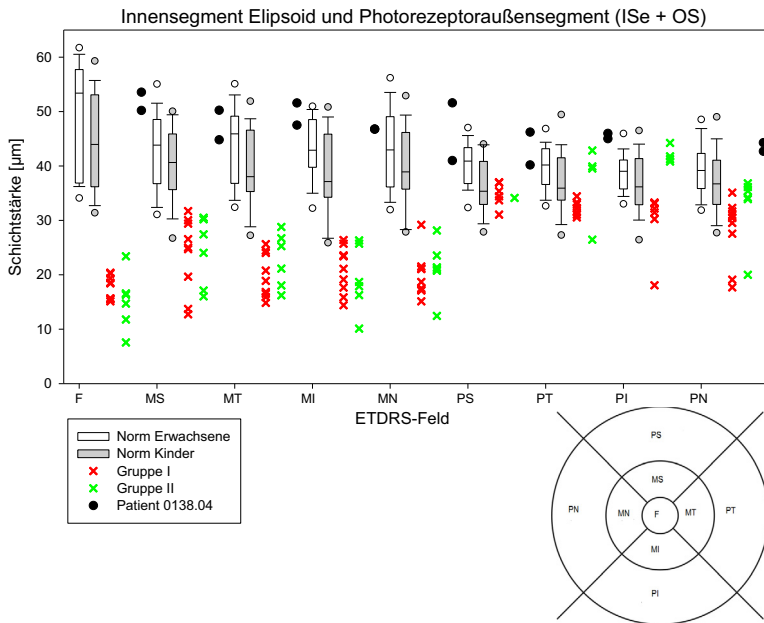


Abb. 34 Graphische Darstellung der Verteilung der mit Hilfe der DiOCTA-Software erhaltenen Schichtdicke der Innensegment-Ellipsoide mit den Photorezeptoraußensegmenten (ISe+OS) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids

Die Boxplots geben die mittleren Dicken der Schicht für Normprobanden wieder (weiß: Erwachsene, grau: Kinder). Das Rechteck beschreibt den Datenbereich zwischen der 25. und 75. Perzentile mit dem Median (horizontale Linie innerhalb des Rechtecks). Die Balken markieren die 10. und 90. Perzentile. Die Punkte stellen die 5. und 95. Perzentile dar. Die Unterteilung erfolgt nach Patientengruppen: Gruppe I ist rot, Gruppe II grün dargestellt. Die Patientin 0138_04 mit der subklinischen Expression der Erkrankung ist mit schwarzen Punkten dargestellt.

Abb. 34 wertet die Schichtdicken für die Gruppe der Innensegment-Ellipsoide mit den Photorezeptoraußensegmenten (ISe+OS) aus. Auffallend ist, dass sich die Schichtdicken der gesunden Probanden in allen Sektoren nicht wesentlich unterscheiden, die Streuung aber zur Peripherie hin abnimmt. Es fällt eine Verdünnung der Schichtdicke in allen Sektoren bei Patienten sowohl der Gruppe I als auch der Gruppe II im Vergleich zu den Normprobanden vor allem in dem zentralen, wie auch in den makulären Sektoren auf. In diesen Bereichen unterscheiden sich die Patientengruppen I und II nicht wesentlich voneinander. In den peripheren Sektoren ist die Dicke der Schichtgruppe denen der Normprobanden vergleichbar. Für die peripheren superioren und peripheren inferioren Sektoren waren insgesamt aufgrund der nicht ausreichenden Abdeckung der Fläche (gefordert war eine Abdeckung von

mehr als 80%) entsprechend weniger Werte für die einzelnen Patienten bestimmbar, so dass die Interpretation nur bedingt möglich war. In den peripheren temporalen und inferioren Sektoren sind die Schichtdicken der Patientengruppe I geringer als die der Patientengruppe II. Die Patientin mit subklinischer Expression der Erkrankung (0138_04) zeigt in allen Sektoren Werte im Normbereich.

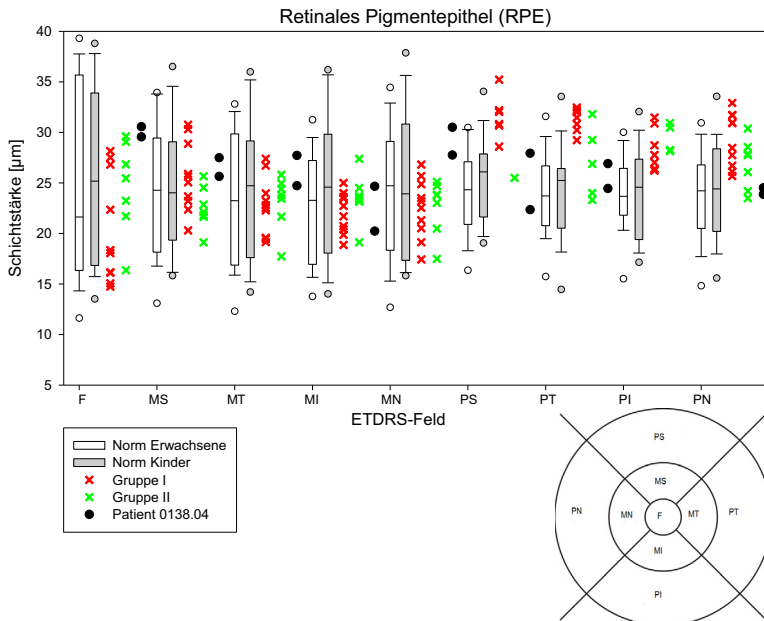


Abb. 35 Graphische Darstellung der Verteilung der mit Hilfe der DiOCTA-Software erhaltenen Schichtdicke des retinalen Pigmentepithels (RPE) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids

Die Boxplots geben die mittleren Dicken der Schicht für Normprobanden wieder (weiß: Erwachsene, grau: Kinder). Das Rechteck beschreibt den Datenbereich zwischen der 25. und 75. Perzentile mit dem Median (horizontale Linie innerhalb des Rechtecks). Die Balken markieren die 10. und 90. Perzentile. Die Punkte stellen die 5. und 95. Perzentile dar. Die Unterteilung erfolgt nach Patientengruppen: Gruppe I ist rot, Gruppe II grün dargestellt. Die Patientin 0138_04 mit subklinischer Expression ist mit schwarzen Punkten dargestellt.

Die Daten zur RPE-Schichtdicke sind in Abb. 35 dargestellt. Hier zeigt sich, dass im zentralen Kreis (F) die Werte im unteren Normbereich liegen, in den perizentralen Sektoren zwischen der 25. und 75. Perzentile und in den peripheren Sektoren im oberen Normbereich. Die Werte der Patientin mit subklinischer Expression liegen im Bereich der Normprobanden.

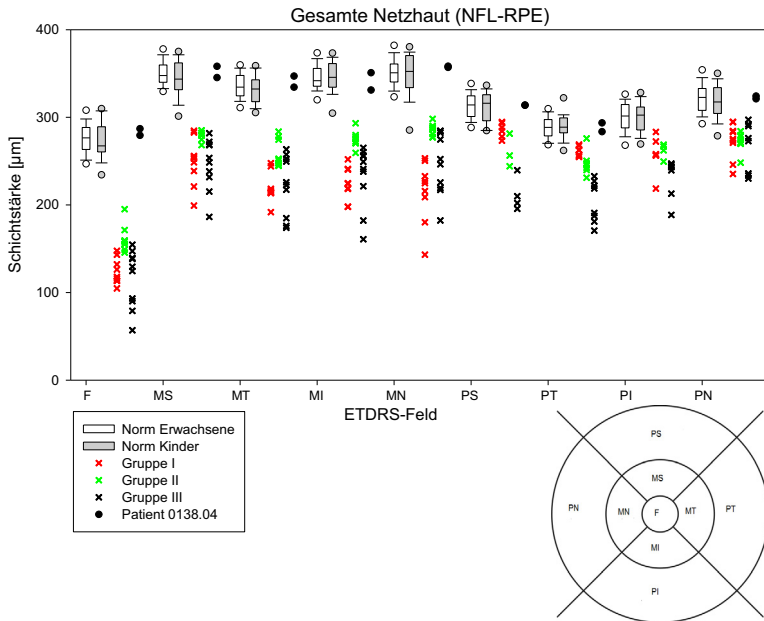


Abb. 36 Graphische Darstellung der Verteilung der mit Hilfe der DiOCTA-Software erhaltenen Schichtdicke der gesamten Netzhaut (NFL bis RPE) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids

Die Boxplots geben die mittleren Dicken der Schicht für Normprobanden wieder (weiß: Erwachsene, grau: Kinder). Das Rechteck beschreibt den Datenbereich zwischen der 25. und 75. Perzentile mit dem Median (horizontale Linie innerhalb des Rechtecks). Die Balken markieren die 10. und 90. Perzentile. Die Punkte stellen die 5. und 95. Perzentile dar. Die Unterteilung erfolgt nach Patientengruppen: Gruppe I ist rot, Gruppe II grün, Gruppe III schwarz dargestellt. Die Patientin 0138.04 mit subklinischer Expression der Erkrankung ist mit schwarzen Punkten dargestellt.

In Abb. 36 ist eine Verteilung der gesamten Netzhautdicke bei allen 25 Patienten abgebildet. Es wurden 86 C-Scans ausgewertet. Davon stammten 20 C-Scans von Patienten der Gruppe I, 44 C-Scans von Patienten der Gruppe II, 20 C-Scans von Patienten der Gruppe III und 2 C-Scans der Patientin 0138_04 mit subklinischer Expression der Erkrankung. Die Patienten sind nach Patientengruppe eingeteilt (Gruppe I rot, Gruppe II grün, Gruppe III schwarz). Die Patientin 0138_04 ist separat dargestellt (schwarze Punkte). Es lässt sich zeigen, dass eine deutliche Verdünnung der Retina in allen Segmenten und bei allen Patientengruppen im Vergleich zu Normprobanden gemessen wurde. In der Patientengruppe III ist die Verdünnung in den peripheren temporalen und inferioren Sektoren am stärksten ausgeprägt. Die Werte von Patientin 0138_04 liegen im Normbereich. In den zentralen und perizentralen

Sektoren ist die gesamte Netzhautdicke bei allen drei Patientengruppen deutlich geringer als bei den Normprobanden.

Qualitativ werden die Dicken der einzelnen Schichten anhand von Thickness-Maps dargestellt. Auf diese Weise lassen sich gruppenbezogene Unterschiede optisch verdeutlichen (Abb. 37, Abb. 38). Als Beispiel zeigt Abb. 38 die Thickness-Maps eines Normprobanden sowie je eines Patienten der Gruppe I und II. Erkennbar ist hier die zentrifugale Verdünnung der Netzhaut bei den vorgestellten Patienten im Vergleich zu dem Normprobanden. Vor allem die Unterschiede der Dicke der ISe+OS-Schichtgruppe zwischen den beiden Patientengruppen werden hier deutlich: Diese Schichtgruppe ist bei den Patienten gegenüber dem Normprobanden auffällig verdünnt (schwarze Areale in der Heatmap).

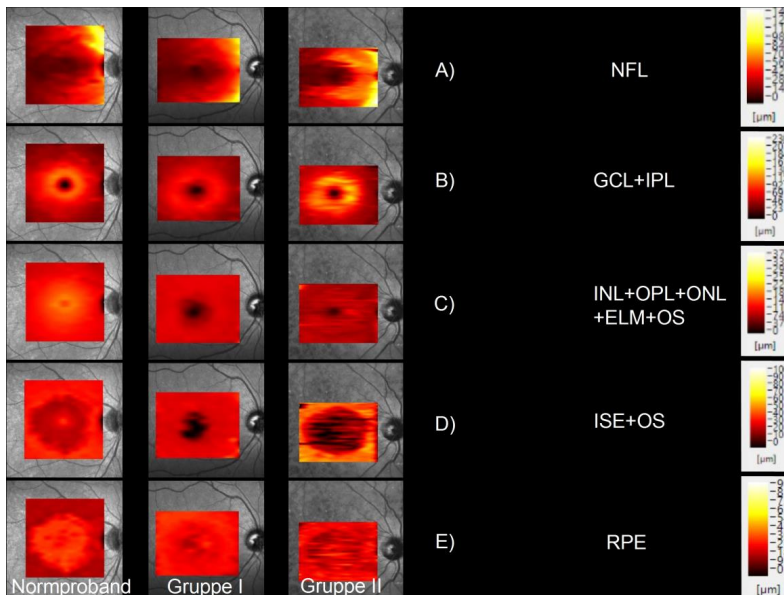


Abb. 37 Thickness-Map-Darstellung der einzelnen Schichten und Schichtgruppen bei einem gesunden Probanden und bei je einem Patienten der Gruppe I und II

Rechts auf der Skala werden die mittleren Netzhautdicken farbig kodiert. Von A-E: Schichten und Schichtgruppen: NFL (140 μm), GCL+IPL (230 μm), INL+OPL+ONL+ELM+IS (370 μm), ISe+OS (100 μm), RPE (90 μm). NFL: Nervenfaserschicht, GCL: Ganglienzellschicht, IPL: innere plexiforme Schicht, INL: innere Körnerschicht, OPL, äußere plexiforme Schicht, ONL: äußere Körnerschicht, ELM: Membrana limitans externa, IS: Photorezeptorinnensegmente, ISe: Innensegment-Ellipsoid, OS: Photorezeptoraußensegment, RPE: retinales Pigmentepithel.

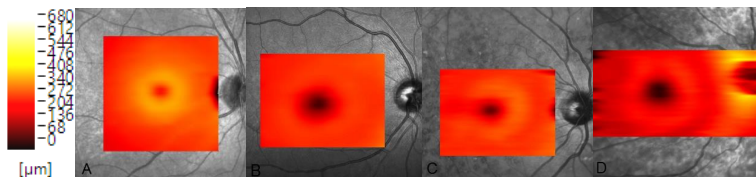


Abb. 38 Thickness-Map Darstellung der Dicke der gesamten Retina innerhalb eines C-Scans bei einem gesunden Probanden (A) und bei je einem Patienten der Gruppe I (B), II (C) und III (D).

Die mittleren Netzhautdicken sind farbig kodiert. Der Maximalwert von 680 μm entspricht der doppelten mittleren Dicke der gesamten Netzhaut bei den Normprobanden. Man erkennt eine im Vergleich zu dem Normprobanden (A) verminderte Dicke der Netzhaut bei Patienten in allen drei Gruppen (B – D), insbesondere die stark reduzierte Dicke im Zentrum.

4 Diskussion

Das *ABCA4*-Gen kodiert für das Transmembran-Transportprotein ABCA4 (Allikmets, Singh, et al. 1997), welches das N-Retinylidene-Phosphatidylethanolamin vom Disklumen über die Diskmembran in das Zytoplasma transportiert (Quazi & Molday 2014),(Molday et al. 2000). Wie bereits in der Einleitung erwähnt, war das ABCA4-Protein der erste ABC-Transporter, der mit humanen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht werden konnte (Allikmets, Singh, et al. 1997),(Allikmets, Shroyer, et al. 1997).

Biallelische Mutationen des *ABCA4*-Gens verursachen ein Spektrum autosomal-rezessiv vererbter Netzhauterkrankungen. Die am häufigsten vorkommende Erkrankung davon ist der Morbus Stargardt. Es gibt einen fließenden Übergang von der als Morbus Stargardt bezeichneten Makuladystrophie bis hin zur schweren Ausprägung einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie (Lorenz & Preising 2005),(Heimann & Kellner 2010). Während die extremen Phänotypen der Erkrankung klinisch einfach zu identifizieren sind, gibt es bei der intermediären Ausprägung („late onset“ Morbus Stargardt überlappend mit einer AMD, Morbus Stargardt mit Beteiligung der Peripherie, ZSD mit schwerer peripherer Degeneration und RP mit gleichzeitigem Verlust der Photorezeptorenfunktion in der zentralen und peripheren Retina) keine allgemein akzeptierten klinischen Parameter zum Vergleich der Schwere der Erkrankung (Klevering et al. 2005),(Cideciyan et al. 2009).

Bei den *ABCA4*-vermittelten Netzhautdystrophien kommt es zur starken Akkumulation von toxischem A2E (N-Retinylidene-N-Retinyethanolamin), einem Bestandteil des Lipofuszins, und dadurch zu einer Zerstörung der RPE-Zellen und zur Degeneration der Photorezeptoren und Veränderungen der nachgeschalteten Zellen (Weng et al. 1999).

Ziel dieser Arbeit war es, aus der Betrachtung morphologischer Daten und funktioneller Untersuchungen ein besseres Verständnis der Erkrankung zu erarbeiten, um somit potentiell therapierelevante Parameter definieren zu können. Dafür wurden 25 Patienten mit nachgewiesenen Mutationen in beiden Allelen des *ABCA4*-Gens ausgewählt und nach der Verteilung der Fundusautofluoreszenz, also einer für diese Fragestellung anerkannt sensitiven Untersuchungsmethode zur Darstellung des retinalen Pigmentepithels, in drei Gruppen eingeteilt. Diese Gruppen wurden retrospektiv nach Untersuchungen der Morphologie und der Funktion miteinander verglichen. Die mit Hilfe der OCT-Technik gewonnenen Daten wurden mit der DiOCTA-

Software ausgewertet. Die hier verwendete DiOCTA-Software ermöglichte es, morphologische Veränderungen der einzelnen Netzhautschichten bei den oben genannten Patienten hinsichtlich der pathologischen Veränderungen (bei einigen Patienten auch im zeitlichen Verlauf) zu verfolgen.

Die Limitierungen der Analysen sowie deren Ergebnisse sollen im Folgenden mit Bezug auf vorangegangene Studien evaluiert werden.

4.1 Einschränkungen der OCT-Technik

Die optische Kohärenztomographie hat sich in der Darstellung der Retina seit über 20 Jahren gut etabliert (Legarreta et al. 2008),(Leung et al. 2008). Die optische Kohärenztomographie ermöglicht eine in-vivo-Querschnittsanalyse der pathologischen Veränderungen der Netzhaut bei verschiedenen Krankheiten. Mikrostrukturelle pathologische Veränderungen der einzelnen Netzhautschichten sowie deren Dynamik können visualisiert werden (Lim et al. 2008),(Querques et al. 2006),(Fleckenstein & Wolf-Schnurrbusch 2010).

Die Genauigkeit der Untersuchung ist allerdings bei verschiedenen Pathologien reduziert (Ray et al. 2005),(Sadda et al. 2006),(Matt et al. 2011). Mehrere Gründe für ungenaue Aufzeichnungen des Reflexionsverhaltens im OCT wurden in der Literatur identifiziert. Dazu gehören unter anderem schlechte Fixation (z. B. durch zentrale und parazentrale Skotome), Fehler bei der manuellen Korrektur der Konturen, ungenaue Software-Algorithmen des OCT und daraus resultierend hohe Standardabweichungen bei der Bestimmung der Foveadicke (Sadda et al. 2006). Auch die äußere Netzhautkonturposition variiert zwischen unterschiedlichen OCT-Geräten und deren Segmentierungsalgorithmen sehr stark (Ehnes et al. 2014), (Matt et al. 2011).

In der vorliegenden Arbeit wurden OCT-Volumenscans mit Hilfe der DiOCTA-Software automatisch segmentiert und anschließend manuell korrigiert. Die genannten Fehlerquellen wurden soweit möglich minimiert:

Die angewendete SD-OCT-Technik ermöglicht eine hohe Auflösung. Zusätzlich war durch die Anwendung der oben beschriebenen Eye-Tracking-Software eine Erstellung von OCTs mit höherer Qualität aufgrund einer reduzierten Zahl von Augenbewegungsartefakten möglich. Die angewendete DiOCTA-Software ermöglichte die Erstellung von Thickness-Maps sowie der ETDRS-Grid-Analyse für jede

segmentierte Schicht. Durch die Anwendung des speziell für Netzhautpathologien entwickelten Segmentierungsalgorithmus der DiOCTA-Software (STGD-Algorithmus) wurde die Zahl der segmentierten Schichten reduziert und die Probleme der Segmentierung der Konturen umgegangen (die iterative Vorgehensweise bei der Segmentierung der Netzhautschichten wurde geändert) (Ehnes et al. 2014). Dies stellt eine effektive Möglichkeit zur Differenzierung der Netzhautschichten bei Pathologien dieser Art dar. Durch die manuelle Korrektur wurden die Fehler der automatischen Segmentierung (Fehlen von Schichten, geringer Kontrast mancher Schichten) erkannt und entsprechend korrigiert.

Jedoch war bei Patienten mit sehr fortgeschrittener Erkrankung (Gruppe III) aufgrund der starken Umorganisation der Retina nicht einmal mit dieser Methode eine Segmentierung von zumindest fünf Schichten möglich. Die DiOCTA-Software ermöglichte, die segmentierten Schichten zusammenzufassen oder diese frei zu kombinieren. Da der Segmentierungsalgorithmus der DiOCTA-Software nur ab einer bestimmten Qualität der OCT-Scans einsetzbar ist (Ehnes et al. 2014), wurde bei den OCT-Volumenscans, die keine ausreichend gute Qualität aufwiesen, nur die gesamte Netzhautdicke vermessen.

4.2 Besonderheiten der Zusammensetzung des Patientenkollektivs

Das in dieser Arbeit untersuchte Patientenkollektiv entspricht hinsichtlich Größe, Geschlechts- und Altersverteilung den in der internationalen Literatur beschriebenen Daten (Burke et al. 2011),(Greenstein et al. 2015),(Duncker et al. 2014),(Lazow et al. 2011),(Querques et al. 2006),(Chun et al. 2014). In dieser Arbeit fand eine gemeinsame Darstellung der Patienten mit early- und late-onset-Manifestation statt, beide wurden in das Patientenkollektiv aufgenommen. Die meisten Patienten in dieser Arbeit bekamen Follow-up-Untersuchungen, was eine Verlaufsbeobachtung der Entwicklung der Erkrankung ermöglichte.

In dieser Studie wurden Patienten, die nur biallelische Mutationen des *ABCA4*-Gens aufwiesen, aufgenommen, während vor allem in der amerikanischen Literatur auch Fälle mit nur einer Mutation oder ohne vorher durchgeführte Genanalyse integriert wurden (Burke et al. 2014),(Chun et al. 2014),(Park et al. 2015a). Dadurch konnte in dieser Arbeit eine Aufnahme von Patienten, die vielleicht nur phänotypisch

Ähnlichkeiten aufwiesen, aber eine andere genetische Ursache der Erkrankung trugen, ausgeschlossen werden. Dies erhöhte die Aussagekraft der Arbeit.

In der Literatur wird der Begriff „Zeitpunkt der Erstdiagnose“ unterschiedlich verwendet. Bei den meisten Fällen, wie auch in dieser Arbeit, handelt sich hierbei um den Zeitpunkt der erstmals bemerkten subjektiven Beschwerden (Burke et al. 2012),(Lee et al. 2014). In einer anderen Studie wurde in asymptomatischen Fällen der Zeitpunkt der letzten augenärztlichen Visite als Datum der Erstdiagnose verwendet und damit die Dauer der Erkrankung bestimmt (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013). In dieser Arbeit fand sich lediglich eine Patientin, die keine subjektiven Beschwerden beklagte (Patientin 0138_04). Dieser Patientin wurde im Gegensatz zum Vorgehen in anderen Studien keine Erkrankungsdauer zugeordnet. Dadurch wurde die Vergleichbarkeit des Parameters Erkrankungsdauer besser gewährleistet.

Zwei weitere in dieser Arbeit erwähnte Patienten (1882_01, 2678_02), bei denen die Bestimmung des Erkrankungsbeginns aus den vorhandenen Daten nicht zu erheben war, wurden aus der Beurteilung der Korrelation der Erkrankungsdauer mit der Läsionsgröße ausgeschlossen.

4.3 Besonderheiten der Einteilung der Patienten in Gruppen

Bei der Einteilung der Gruppen wurde auf eine Klassifikation von Fishman und Mitarbeitern (Fishman et al. 1999) Bezug genommen. Er legte auf die Funduskopie, Fluoreszeinangiographie und auch das ERG großen Wert. Die Untersuchungsmethoden haben sich jedoch weiterentwickelt. Zum einen können die funduskopisch darstellbaren Läsionen nun besser in der Fundusautofluoreszenz dargestellt werden, zum anderen stellt die Fluoreszeinangiographie eine invasive Untersuchungsmethode mit entsprechenden Risiken dar. Die Fundusautofluoreszenz dagegen ist eine nicht invasive Methode zur Bestimmung der Integrität des retinalen Pigmentepithels (Heimann & Kellner 2010). Auch die funduskopisch kaum sichtbaren Flecken sind mit dieser Methode besser darstellbar (Lois et al. 2004),(Gomes et al. 2009). Unabhängig von den gewählten Untersuchungen findet die Klassifikation von Fishman et al. aus dem Jahr 1999 breite Anwendung.

Die Einteilung der Patienten in drei Gruppen erfolgte in dieser Arbeit anhand des Fundusautofluoreszenzbildes. Die Gruppe I beinhaltet Patienten mit zentraler,

makulärer Läsion, die Gruppe II Patienten mit zentraler Läsion und Flecken, die über die Gefäßbögen und bis in die Peripherie reichen. Die Gruppe III bilden Patienten mit sehr ausgeprägten atrophischen Veränderungen und teilweise bereits resorbierten Flecken. Eine solche Einteilung findet sich in ähnlicher Form in der Arbeit von Fujinami und Mitarbeitern (Fujinami et al. 2015), die zusätzlich auch andere Einteilungen (nach dem Fundusbild, der Elektroretinographie und nach dem Genotyp) durchführten.

Die eindeutige Zuordnung der Patienten zu einer der drei Gruppen erfolgte anhand der oben genannten Kriterien (siehe 3.2). Es fanden sich jedoch Grenzfälle, die basierend auf der Größe der zentralen Läsion zwar in die Gruppe II passten, jedoch aufgrund des Fehlens von mittelperipheren und peripheren Flecken in die Gruppe I eingeteilt wurden.

Durch die Eingruppierung der Patienten in die drei Gruppen war es möglich, die Läsionsgrößen für jede Gruppe separat zu analysieren sowie die Beurteilung der Schichtdicke gruppenbezogen durchzuführen. Die Gruppe I mit einer zentralen Läsion mit oder ohne zentrale Flecken entsprach im eigentlichen Sinne einem Morbus Stargardt. Die Gruppe II entsprach am ehesten einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie. Patienten der Gruppe III zeigten bereits sehr ausgeprägte Veränderungen, die einer schweren, progressiven Zapfen-Stäbchen-Dystrophie entsprachen - mit großen atrophischen Läsionen, mit Veränderungen im photopischen und skotopischen ERG und großflächigen Skotomen sowie größtenteils bereits resorbierten Flecken. Es gibt jedoch einen fließenden Übergang von der als Morbus Stargardt bezeichneten Makuladystrophie bis hin zur schweren Ausprägung einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie. Der individuelle Verlauf der Erkrankung ist zum Zeitpunkt der Diagnosestellung nicht vorhersehbar (Lorenz & Preising 2005),(Heimann & Kellner 2010). Die Einteilung der Patienten in diese drei Gruppen stellte daher keine starre Trennung der unterschiedlichen Phänotypen dar, sondern repräsentierte eher die Entwicklung der gleichen Erkrankung im zeitlichen Verlauf.

Die Dauer der Erkrankung war bei den Patienten der Gruppe II mit dem Median von 2,5 Jahren am kürzesten. Die Gruppe II beinhaltet Patienten, deren Mutationen zu einem aggressiveren Krankheitsverlauf führen. Außerdem war der Median der Erstdiagnose bei Patienten der Gruppe III mit 11 Jahren am kürzesten gefolgt von Gruppe II mit 13 Jahren. Anhand der Gruppen II und III kann bestätigt werden, dass Patienten mit einem früheren Erkrankungsbeginn eine schnellere Progression der Erkrankung zeigen als Patienten mit einem späteren Krankheitsbeginn (Lambertus et al. 2015),(Westeneng-Van Haaften et al. 2012). Eine große Zahl der Patienten der Gruppe III zeigte bereits eine lange Erkrankungsdauer. Außer relativ jungen Patienten,

die eine schnellere Progression aufwiesen, beinhaltet diese Gruppe auch Patienten, die weniger schwere Mutationen trugen, aber durch die lange Dauer der Erkrankung bereits in einem fortgeschrittenen Stadium untersucht wurden. Wären diese Patienten in jüngerem Alter untersucht worden, wären sie wahrscheinlich einer anderen Gruppe zugeordnet worden.

Als „early onset“-STGD wird die Erkrankung bezeichnet, wenn sie vor dem 10. Lebensjahr begonnen hat und bei den Patienten Mutationen in beiden Allelen des *ABCA4*-Gens vorliegen oder wenn keine Daten aus einer *ABCA4*-Gen-Analyse vorliegen, aber sich eine zentrale Netzhautläsion, Flecken oder „dark choroid“ zeigen. Die meisten dieser Patienten zeigten einen frühen Beginn und schweren Verlauf (Lambertus et al. 2015). Es besteht Übereinstimmung, dass der „early onset“-STGD mit schlechtem Visus und frühen fovealen Anomalien verbunden ist und zu einem Endstadium mit schwerem Visusverlust und ausgeprägter Atrophie der Retina führt (Lambertus et al. 2015). In der vorliegenden Arbeit fanden sich insgesamt 7 Patienten (2 Patienten der Gruppe I, 3 Patienten der Gruppe II und 2 Patienten der Gruppe III), die als „early onset“ eingestuft wurden. Ein Patient der Gruppe I hatte eine kurze Erkrankungsdauer, so dass zum Verlauf noch keine Aussage getroffen werden konnte. Bei dem anderen Patienten der Gruppe I konnte diese Hypothese nicht bestätigt werden, weil trotz längerer Erkrankungsdauer nur zentrale Veränderungen ohne periphere Beteiligung bestanden. Jedoch konnten die obigen typischen Eigenschaften der „early onset“ Erkrankung für die alle genannten Patienten der Gruppe II (3 Patienten) und III (2 Patienten) beobachtet werden.

Die subjektiven Beschwerden bezüglich des Dämmerungs- und Nachtsehens nahmen von Gruppe I bis Gruppe III zu. Dies weist auf eine zunehmende Beteiligung der Stäbchen im Krankheitsverlauf von Gruppe I zu Gruppe III hin. Auch zeigte die Untersuchung des Farbensehens eine zunehmende Beeinträchtigung von Gruppe I hin zur Gruppe III. Das wird damit erklärt, dass auch die Zapfen zunehmend in der Funktion beeinträchtigt waren.

Um einen Literaturvergleich des hier verwendeten Patientenkollektivs zu ermöglichen, wurde eine nicht gruppenbezogene Visusbestimmung des Kollektivs durchgeführt. Es zeigte sich eine Vergleichbarkeit mit den Vorarbeiten (Traboulsi 2012),(Rotenstreich et al. 2003). Lediglich in einem Visusbereich unter/gleich 0,1 war die Patientenzahl in dieser Arbeit mit 48% - im Gegensatz zu Vorarbeiten mit 18% - erhöht (Lois et al. 2001). Dies kann an einem bereits fortgeschrittenen Erkrankungsstadium der Patienten in dieser Arbeit liegen. Als alternative Erklärung könnte folgender Ansatz dienen:

Während in andere Studien Patienten mit dem typischen klinischen Bild eines Morbus Stargardt eingeschlossen wurden (teils mit, teils ohne nachgewiesene *ABCA4*-Mutation), war das Einschlusskriterium in der vorliegenden Arbeit das Vorliegen einer molekulargenetisch nachgewiesenen biallelischen *ABCA4*-Mutation unabhängig vom klinischen Befund. Daraus folgt, dass auch Patienten mit bereits weit fortgeschrittenem Befund (z. B. im Sinne einer ausgedehnten Zapfen-Stäbchen-Dystrophie) mit in das Kollektiv eingeschlossen wurden, die auch einen entsprechend stark reduzierten Visus aufwiesen.

Bei insgesamt 14 Patienten wurde ein zeitlicher Verlauf der Erkrankungsdauer bis zu 5 Jahren beobachtet. Das von Heimann und Kollegen beobachtete Phänomen, dass ein Visus im Bereich um 0,1 über lange Zeit bei den meisten Patienten stabil blieb (Heimann & Kellner 2010), wurde in dieser Arbeit bestätigt (siehe 3.2).

In dieser Studie zeigte sich im Vergleich der Gruppen (von Gruppe I über Gruppe II zu Gruppe III) eine Amplitudenminderung sowie Latenzverlängerung im photopischen, anschließend auch im skotopischen Bereich im Gf-ERG sowie eine zunehmende Skotomgröße und -anzahl in der Perimetrie.

In der Literatur wird beschrieben, dass sich das Gf-ERG am Anfang der Erkrankung oft als unauffällig oder wenig verändert zeigt. Erst im Laufe der Zeit kommen Veränderungen der skotopischen und photopischen Antworten hinzu (Fishman et al. 1999),(Traboulsi 2012),(Lois et al. 1999).

Da die Gruppeneinteilung in dieser Arbeit keine starre Trennung der unterschiedlichen Krankheiten, sondern eher ein Stadienverlauf der Erkrankung mit der Zeit darstellt, decken sich die in der Literatur beschriebenen Beobachtungen bezüglich Zunahme der funktionellen Einbußen mit den in dieser Studie beschriebenen Daten. Jedoch führt dies nicht immer zu einer eindeutigen Zugehörigkeit und damit Zuordnung zu den Gruppen. Im Folgenden sollen die Grenzfälle näher betrachtet werden.

4.4 Diskussionsbedürftige Grenzfälle

Die Patientin 1499_01 der Gruppe I stellt einen Grenzfall dar. Sie zeigte eine große zentrale makuläre Läsion. Der Visus war im Vergleich zur Größe der zentralen Veränderung mit beidseits 0,4 unerwartet gut. Dass in der MP1-Untersuchung dieser Patientin eine empfindliche Stelle parafoveal von weniger als 1 mm detektierbar war,

die im Goldmann-Gesichtsfeld nicht erfasst wurde, lag wahrscheinlich an der Genauigkeit der Untersuchungsmethode. Das Goldmann-Gesichtsfeld umfasst einen Bereich von 90°. Somit ist die Untersuchung der Fovea bei der Goldmann-Perimetrie nur ein Bruchteil des ganzen Untersuchungsumfeldes. Es erfordert daher eine sehr hohe Rasterdichte, um die Veränderungen genauer erkennen zu können, wogegen die MP1-Untersuchung für das zentrale 20°- bis 30°-Gesichtsfeld ausgerichtet, zusätzlich funduskontrolliert und deshalb diesbezüglich genauer ist (Kroll et al. 2008). Die gute Sehschärfe bei der Patientin wird durch die zentral gut erhaltene Schichtung der Retina erklärt („foveal sparing“-Phänomen).

Auch die Patientin 0138_01 stellte einen Grenzfall dar. Bei zentral großer Läsion der ISe-Schicht wies sie nasal vereinzelte Flecken erhöhter FAF sowie bereits bis auf 50% erniedrigte Amplituden in skotopischem Bereich des Gf-ERG auf – im Gegensatz zu den anderen Patienten der Gruppe I mit einer unauffälligen Gf-ERG-Untersuchung.

Die Gruppeneinteilung erfolgte jedoch aufgrund der Läsion und der Verteilung von Flecken. Die beiden Patientinnen präsentierten mittelperipher und peripher einen Fundusbefund ohne Flecken (bis auf vereinzelte Flecken nasal der Papille). Wenn man aber die Größe der Läsion betrachtet, wird deutlich, dass die zentralen in der FAF sichtbaren Läsionen der beiden Patientinnen den ganzen Makulabereich ausfüllten. Die beiden Patientinnen wiesen außerdem eine lange Erkrankungsdauer auf. Die Einteilung dieser beiden Patientinnen in die Gruppe I ist gerechtfertigt, da sie mittelperipher und peripher trotz einer langen Erkrankungsdauer keine oder nur wenig Fundusveränderungen in Form von Flecken aufzeigten. Darüber hinaus verhält sich die Patientin 1499_01 hinsichtlich der funktionellen Ergebnisse gruppenkonform. Die andere Patientin verhält sich hinsichtlich des Gf-ERG wie die meisten Patienten der Gruppe II. Es bietet sich die Erklärung an, dass eine beträchtliche Zahl der Stäbchen bereits durch die Größe der zentralen Veränderung beeinträchtigt ist.

Durch die Einteilung des Patientenkollektivs in die drei Gruppen konnten die gruppenspezifischen Unterschiede der Morphologie und Funktion verdeutlicht werden. Der Median des Zeitpunktes der Erstdiagnose war bei Patienten der Gruppe I mit 15 Jahren am spätesten. Patienten dieser Gruppe zeigten auch die mildesten Veränderungen. Zum Teil lag es an den Mutationen, die sie aufwiesen, welche zu weniger aggressiven Krankheitsverläufen führten, zum anderen daran, dass ein Teil der Patienten dieser Gruppe (3 von 9) erst kurz (weniger als ein Jahr) vor der SD-OCT-Aufnahme die ersten subjektiven Beschwerden bemerkt hatte und sich somit noch im anfänglichen Stadium der Erkrankung befand. Der früheste Zeitpunkt der Erstdiagnose

von Patienten der Gruppe III lag dagegen bei 11 Jahren. Und wie bereits in der Literatur dargestellt, geht mit einem früheren Beginn auch eine schnellere Progression der Erkrankung einher. Die Dauer der Erkrankung war bei Patienten der Gruppe II mit 2,5 Jahren am kürzesten. In dieser Gruppe sind Patienten mit einem aggressiveren Verlauf zusammengefasst, die kurz nach der Erstdiagnose bereits fortgeschrittene Veränderungen aufwiesen. Die Mutationen bei Patienten dieser Gruppe sind als schwerwiegender zu bewerten als bei Patienten der Gruppe I. Gruppe III bildeten einerseits Patienten, die einen aggressiven Krankheitsverlauf aufwiesen, andererseits auch Patienten, die bereits eine sehr lange Erkrankungsdauer und damit auch sehr fortgeschrittene Funktionseinbußen und Veränderungen der Morphologie zeigten. Anhand der Untersuchungen und durch die Gruppeneinteilung konnte verdeutlicht werden, dass wenn die Morphologie der Netzhaut bereits stark verändert war, auch die Funktion (der Visus, das Gesichtsfeld, das ERG, das Farbensehen, das Dämmerungssehen) bereits sehr beeinträchtigt war. Die Zusammenfassung der Patienten in Gruppen erleichterte den Vergleich der Patienten, was übersichtlicher erschien als die vergleichende Beschreibung jedes einzelnen Patienten. Dass sich ein Patient in einer bestimmten Gruppe zum Zeitpunkt der Untersuchung befand, schließt nicht aus, dass er zu einem früheren Zeitpunkt einer anderen Gruppe zugehört hätte. Über die Beobachtungszeit von bis zu 5 Jahren fanden sich allerdings keine Patienten, die in eine andere Gruppe gewechselt hätten.

Insbesondere in der Gruppe I waren Patienten zu finden, die eine langsame Progression aufwiesen. So waren Patienten, die zum fortgeschrittenen Alter ihre Erstdiagnosen erhielten, nach Jahren immer noch der Gruppe I zugehörig. Es konnte verdeutlicht werden, dass bereits bei den meisten Patienten der Visus sehr beeinträchtigt war und dass Patienten, die noch eine gute Sehschärfe aufwiesen, unabhängig der Gruppenzugehörigkeit fast ausschließlich den „foveal sparing“-Phänotyp präsentierte. Möglicherweise sprechen die Patienten mit dem „foveal sparing“ sowie die langsam progredienten Patienten am besten auf eine genetische Therapie an, da die zentrale Netzhaut noch am wenigsten beeinträchtigt ist und mit einer besseren Antwort der nachgeschalteten Zellen gerechnet werden kann. Man kann schlussfolgern, dass sich die Einteilung in die 3 Gruppen bewährt hat, da hierdurch die charakteristischen Merkmale der jeweiligen Gruppe herausgestellt werden konnte.

4.4.1 „Foveal sparing“-Phänomen

Die in der Literatur vertretene Ansicht besagt, dass das späte Auftreten der Erkrankung sowie eine gut erhaltene Sehschärfe charakteristische Merkmale des „foveal sparing“-Phänotyps darstellen, jedoch mit unterschiedlichen Funduserscheinungen und Ganzfeld-ERG-Ergebnissen verbunden sein können (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013).

Die Patientin 1499_01 zeigte im OCT ein sogenanntes „foveal sparing“-Phänomen mit relativ guter Erhaltung der äußeren Netzhautschichten in der Fovea (siehe Abb. 23 im Abschnitt 3.2.6). Ein ähnliches Bild zeigten die Patientin 2557_04 der Gruppe I sowie die 4 Patienten der Gruppe II (1827_01, 2203_01, 2400_01, 2709_01) und ein Patient der Gruppe III (2101_01), die ebenfalls in der OCT-Aufnahme ein „foveal sparing“-Phänomen präsentierten.

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Patienten mit diesem Phänomen hatten eine sehr inhomogene Altersverteilung und zeigten große Unterschiede in der Dauer der Erkrankung. Die Vergleichbarkeit von publizierten Studienergebnissen mit zum Teil sehr umfangreichen Patientenkollektiven (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013), (Fujinami et al. 2011), (Rotenstreich et al. 2003) ist jedoch bei 7 Patienten in dieser Arbeit bezüglich der beiden genannten Kriterien (Altersverteilung und Erkrankungsdauer) nur sehr eingeschränkt gegeben. Gemeinsamkeiten mit der Literatur bestehen jedoch darin, dass die Patienten in der Fundusautofluoreszenz und funduskopisch eine große Varianz der Befunde aufwiesen und eine gut erhaltene Schichtung der Netzhaut in der Fovea mit daher gutem Visus zeigten. Warum die Fovea hier weniger stark degenerierte, ist aus den phänotypischen und genotypischen Daten nicht abzuleiten (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013), (Fujinami et al. 2011), (Rotenstreich et al. 2003).

Einer der 7 Patienten zeigte die zuvor von Goldberg et al. (Goldberg et al. 2013) beschriebenen sogenannten tubulären Strukturen („outer retinal tubulations“) der äußeren Retina. Es wird vermutet, dass diese als Antwort auf einen Verlust oder eine Dysfunktion von RPE-Zellen auftritt. Diese Rosetten stellen möglicherweise absterbende Photorezeptoren dar, die kreisförmig angeordnet werden, um deren Überleben zu fördern (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013).

Mehrere Arbeitsgruppen beschreiben die klinische und genetische Ätiologie dieses Phänomens als unklar (Fujinami, Sergouniotis, et al. 2013), (Westeneng-Van Haaften et al. 2012). Lee und Kollegen postulieren, dass das Vorhandensein dieses Phänomens

in der Fovea auf die in dieser Region hohe Zapfendichte zurückzuführen sei (Lee et al. 2014). Warum aber nur einige Erkrankte solch ein Phänomen präsentieren, bleibt unklar.

Andere Arbeiten richten ihre Aufmerksamkeit in Richtung alternativer Mechanismen der Regeneration der Photopigmente, also darauf, dass außer den RPE-Zellen auch die Müller-Zellen den Photorezeptoren Chromophore zur Verfügung stellen könnten (Saari 2012). Es wird postuliert, dass eine beobachtete Verdickung der Membrana limitans externa in der Region der Fovea bei STGD1-Patienten eine frühe Schutzreaktion der Müllerzellen auf Stressfaktoren darstellen könnte (Lee et al. 2014).

4.4.2 Anmerkungen zu den Befunden der Patientin mit subklinischer Expression der Erkrankung – ein Vergleich mit Normprobanden

Die Patientin 0138_04 mit subklinischer Expression der Erkrankung war ein Beispiel für eine (im Vergleich mit Normprobanden) gut erhaltene Netzhautstruktur bei jedoch nachgewiesener Mutation des *ABCA4*-Gens in beiden Allelen. Nach multifokalem ERG ist dem Bereich der Makula eine etwas unter der Norm liegende elektrische Aktivität zuzuordnen, die als subklinisches Zeichen der Genveränderung zu werten ist. Außer diesen diskreten Auffälligkeiten zeigte sie keine erkrankungsspezifischen Veränderungen. Lediglich am rechten Auge fand sich parafoveal nasal eine gelbliche Druse. Diese kleine, funduskopisch sichtbare Läsion stellte sich rund und nicht irregulär oder fischförmig dar, was jedoch als typisch für die Stargardt-Erkrankung angesehen würde (Westeneng-Van Haaften et al. 2012). Somit ist ein direkter Zusammenhang der solitären Druse mit der *ABCA4*-Mutation zwar denkbar, aber nicht eindeutig herzustellen. Die Patientin beklagte subjektiv keine Visusbeschwerden.

Einen ähnlichen Fall beschrieben Westeneng-Van Haaften et al. 2012. Deren Patient wies funduskopisch kleine gelbliche Flecken in der Makula, in der FAF eine ausgeprägte Hypofluoreszenz im Makulabereich und veränderte Zapfenantworten im multifokalen ERG auf und hatte Beschwerden hinsichtlich des Dämmerungssehens. Der Patient wurde von den Autoren als „late onset“-STGD eingestuft (Westeneng-Van Haaften et al. 2012).

Auch andere Autoren beschrieben Fälle der Zapfendystrophie mit Veränderungen lediglich im ERG (OCT noch unauffällig) in anfänglichen Stadien der Erkrankung (Cho et al. 2013).

Die Aufnahme der Patientin mit subklinischer Expression in die Arbeit hat diese bereichert, da so verglichen werden konnte, ob es hier Unterschiede zu Normprobanden in der Dicke der Netzhautschichten gibt. Die Patientin lag bei allen untersuchten Netzhautschichten im Bereich der Werte der Normprobanden und wich damit stark von den anderen Patienten dieser Arbeit hinsichtlich Veränderungen der Netzhautschichtung ab.

4.5 Überlegungen zu Läsionsgrößen

Aktuell wird in der einschlägigen Literatur die Struktur „Innensegment-Ellipsoid (ISe)“ in verschiedenen Publikationen als wichtiger morphologisch-funktioneller Korrelationsparameter diskutiert (Hood et al. 2011),(Lazow et al. 2011),(Birch et al. 2013). Bereiche der Netzhaut, in denen die ISe-Schicht noch eindeutig abgrenzbar ist, enthalten vermutlich noch funktionsfähige Photorezeptoren oder zumindest solche, die aufgrund ihrer erhaltenen morphologischen Integrität nach einer spezifischen Genterapie wieder ihre Funktion zurückerlangen könnten (Stieger & Lorenz 2014).

Das Ausmessen der flächenbezogenen Läsionsgröße anhand der fehlenden ISe-Schicht ist bisher in der Literatur nicht beschrieben und stellt somit einen originären Ansatz der Beurteilung von OCT-Daten dar. Lediglich die Arbeit von Greenstein und Mitarbeitern verwendet einen Ansatz, in dem die Flächengröße des Defektes der ISe-Schicht erarbeitet wurde. Bei diesen Autoren ist jedoch die ISe-Schicht mit der OS- und RPE-Schicht zusammengefasst und als OS+ bezeichnet (Greenstein et al. 2015).

Die dieser Arbeit zu Grunde liegenden, mit der DiOCTA-Software gemessenen Läsionsflächen nahmen im beobachteten zeitlichen Verlauf von bis zu 5 Jahren (ähnlich den von Greenstein und Kollegen beschriebenen Ergebnissen) bei den ausgewerteten Patienten der Gruppe I und II erwartungsgemäß an Größe zu (siehe Abb. 28 im Abschnitt 3.4). Damit ist erstmals eine Aussage über eine Zunahme der mit Hilfe der DiOCTA-Software bestimmten Läsionsgröße bei Patienten mit Veränderungen an beiden Allelen des *ABCA4*-Gens (und nicht eines Kollektivs von Patienten mit Morbus Stargardt) erbracht.

In der Literatur wurden bereits Untersuchungen zur Progression des ISe-Schicht-Defektes über einen zeitlichen Verlauf mit Hilfe der SD-OCT-Technik bei XRP-Patienten durchgeführt (Birch et al. 2013),(Birch et al. 2015). Es wurden jedoch

Einzelscans verwendet, was keine Flächenberechnung erlaubt. Es zeigte sich nicht nur eine Zunahme des Defektes im zeitlichen Verlauf, sondern auch, dass das Fortschreiten schneller erfolgte, wenn ein Defekt initial bereits groß war. Zudem zeigte sich eine „schwache, aber signifikante Tendenz“, dass sich der Verlust der Ellipsoid-Zone mit abnehmendem Abstand zur Fovea abschwächte. Die letztere der beiden oben genannten Studien von Birch et. al konnte zusätzlich eine schnellere Progression in Bereichen der Übergangszonen von gesunder zur pathologischer Netzhaut im Vergleich zur mittleren Peripherie und zur Makularegion mit statischer Perimetrie (Empfindlichkeitsabnahme in dB) zeigen (Birch et al. 2015).

Dies könnte bedeuten, dass die Zellen in Foveanähe eine besondere Widerstandsfähigkeit zeigen. In dieser Dissertation wiesen fast ein Drittel der Patienten trotz ausgeprägten Fundusveränderungen das Phänomen des „fovealen sparing“ auf.

Aus den in dieser Dissertation erarbeiteten Verlaufsdaten zur Fläche der fehlenden ISe-Schicht konnte ein individueller Krankheitsverlauf der einzelnen Patienten visualisiert werden. Diesem Leitgedanken sind auch Birch und Kollegen nachgegangen. In deren Arbeit wurde eine Bestimmung der Breite der mit dem OCT beurteilbaren fehlenden ISe-Schicht über die Zeit durchgeführt und als Krankheitsverlauf in $\mu\text{m}/\text{Jahr}$ ausgedrückt. Die Verlaufsdaten, die in der vorliegenden Arbeit zur Verfügung standen, erlauben es aufgrund der geringen Patientenzahl nicht, allgemeine Aussagen über die Geschwindigkeit der Zunahme der ISe-Läsion über die Zeit zu treffen. Anhand der Verlaufsbeobachtungen an einer größeren Zahl von Patienten und einem längeren Beobachtungszeitraum kann man zukünftig solche Patienten, die zu einer schnelleren Progression neigen, von denen, die langsamer progredient werden, unterscheiden. Die Wirksamkeit einer Therapie wäre bei solchen Patienten am größten, bei denen die Zellen der Netzhaut noch nicht so weitreichend degeneriert sind.

Die Läsionsgrößen wurden außerdem bei dieser Dissertation mit unterschiedlichen Parametern wie dem Visus, dem Alter der Patienten und der Erkrankungsdauer verglichen.

Es zeigte sich eine Tendenz, dass die Patienten der Gruppe II insgesamt jünger waren und eine kürzere Erkrankungsdauer im Verhältnis zur Läsionsfläche aufwiesen als die Patienten der Gruppe I. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Daten der Literatur, in denen Aussagen über bestehende Korrelationen zwischen dem Alter bei Diagnosestellung und der Progression der Erkrankung sowie einem schlechteren Visus (je früher der Beginn der Erkrankung, desto schneller die Progression und der

Visusverlust) gemacht wurden (Lois et al. 2001),(Rotenstreich et al. 2003),(Fujinami, Lois, et al. 2013),(Fujinami et al. 2015),(Michael Stur et al. 2007).

Die Mutationen im *ABCA4*-Gen können mit einem breiten Spektrum unterschiedlicher Phänotypen assoziiert werden (Sullivan 2009). Hierzu wurde ein Modell der Korrelation des Phänotyps mit dem funktionellen Schweregrad der *ABCA4*-Gen-Mutation vorgeschlagen (Cremers et al. 1998),(Klevering et al. 2005). Danach verursachen schwere Genmutationen den Phänotyp einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie oder Retinitis pigmentosa, moderate Genmutationen den eines Morbus Stargardt und eine Kombination von Mutationen mit geringer Beeinträchtigung des Transportproteins die „late onset“ Variante des Morbus Stargardts (Westeneng-Van Haaften et al. 2012). Ein möglicher Erklärungsansatz, warum die Patienten der Gruppe II früher erkrankten, eine kürzere Erkrankungsdauer und dabei größere Läsionen aufwiesen, bezieht sich auf die schwereren Mutationen in dieser Patientengruppe.

Nach der Korrelation der Läsionsgrößen mit der Sehschärfe in der vorliegenden Arbeit, zeigte sich, dass bei kleinen bis zu 5 mm² Läsionsgrößen noch ein relativ guter Visus zu erwarten war. Bei den größeren Läsionen war der Visus bereits sehr beeinträchtigt. Mit der weiteren Zunahme der Läsion senkte er sich aber meistens nicht weiter ab. Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit den von Heimann und Kollegen berichteten Daten über eine Stabilisierung des Visus im Bereich von 0,1 (Heimann & Kellner 2010). Man stellt fest, dass ein guter Visus bei einer größeren Läsion nur bei Patienten mit einem „foveal sparing“-Phänomen zu finden ist.

Ein solcher Vergleich mit den durch die OCT-Technik gewonnenen flächenbezogenen Daten fand sich in der bisherigen Literatur nicht. Die Vergleiche der zentral gelegenen Einzelscans mit dem Visus zeigten eine Korrelation zwischen der Sehschärfe und dem Durchmesser des Defektes der Photorezeptorenschicht in der Fovea (Stur et al. 2007),(Querques et al. 2009). Eine Korrelation zwischen besserem BCVA, besserem Ergebnis in der MP1-Perimetrie, geringer verändertem multifokalen ERG und einer fundusphotographisch weniger atrophischen makulären Läsion mit Erhalt der IS/OS-Linie im SD-OCT fanden auch Testa und Mitarbeiter, die im SD-OCT sechs horizontale B-Scans durch die Makula untersuchten (Testa et al. 2012).

Die Frage nach der Reihenfolge der degenerativen Veränderungen der Netzhautzellen beim Morbus Stargardt (zuerst Photorezeptoren, dann Pigmentepithel oder umgekehrt) wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Während einige Arbeitsgruppen die Hypothese stärkten, dass der Verlust der Photorezeptoren vor dem

RPE-Verlust stattfindet (Lazow et al. 2011),(Chen et al. 2011),(Gomes et al. 2009),(Burke et al. 2011), berichteten andere das Gegenteil (Glazer & Dryja 2002),(Cideciyan et al. 2004),(Greenstein et al. 2015). Histologische Untersuchungen zeigten, dass sich an Stellen mit vollständigem Verlust der Photorezeptoren teilweise Stellen mit noch erhaltenen RPE-Zellen befinden (Jones et al. 2012), was auf eine primäre Degeneration der Photorezeptoren hinweist.

Durch Verwendung der DiOCTA-Software war es möglich, die Läsionsfläche der fehlenden ISe-Schicht sehr genau zu vermessen. Dies ermöglichte eine exakte Beobachtung der Veränderungen dieser Art sowie einen Vergleich zwischen den Patientengruppen bzw. einzelnen Patienten, auch im zeitlichen Verlauf. Die Ergebnisse können genutzt werden, um Patienten mit unterschiedlich schneller Progression der Erkrankung für die zukünftige Therapie zu finden. Eine Limitierung der Technik zeigte sich jedoch bei Patienten, bei denen die Fläche des ISe-Schadens den untersuchten C-Scan überragt, wobei diese Patienten mit bereits sehr weit fortgeschrittenem Netzhautschaden voraussichtlich am wenigsten für eine Gentherapie in Frage kommen. Patienten mit einer Ausdehnung der Läsionsfläche der ISe-Schicht, die den untersuchten C-Scan überragte, wurde zahlenmäßig eine Läsionsfläche von 28 mm² zugeordnet, also entsprechend die maximale Fläche des gesamten C-Scans (28 mm²). Eine über diesen Bereich hinausgehende Berechnung der gesamten Läsionsfläche war naturgemäß nicht möglich, da diese Bereiche außerhalb der vorhandenen OCT-Scans lagen. Dennoch war aufgrund der statistischen Vergleichbarkeit die Zuordnung eines konkreten Zahlenwertes sinnvoll. Die Läsionsgröße aller Patienten der Gruppe III befand sich bereits in diesem Bereich. Dennoch war es sinnvoll, die Patienten der Gruppe III in die Arbeit einzuschließen; schließlich handelte es sich bei diesen um die Fälle mit den am meisten fortgeschrittenen Veränderungen. Somit konnte die Arbeit mit den Vergleichen zwischen Läsionsgröße auf der einen Seite und Visus, Erkrankungsdauer und Alter der Patienten der Gruppe III auf der anderen Seite ausgeweitet werden.

4.6 Besonderheit der Studie - flächenbezogene Schichtdickenbestimmung

Die meisten bisherigen Studien verglichen die OCT-Daten mit unterschiedlichen Parametern anhand von punktuellen Veränderungen eines zentralen OCT-B-Scans

(Cho et al. 2013),(Huang et al. 2014),(Burke et al. 2011),(Lazow et al. 2011). Die Besonderheit der vorliegenden Arbeit liegt darin, dass Volumenscans verwendet wurden. Dadurch war es mit Hilfe der DiOCTA-Software möglich, eine flächenbezogene Analyse durchzuführen. Dies stellt eine Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten dar.

Die DiOCTA-Software ermöglichte es zudem, die Dicke unterschiedlicher Schichten der Netzhaut separat zu untersuchen. Anhand der Empfehlungen von Ehnes und Kollegen erfolgte in der vorliegenden Arbeit eine Einteilung der segmentierten OCT-Netzhautschichten in fünf Schichten bzw. Schichtgruppen (NFL, GCL+IPL, INL+OPL+ONL+ILM+IS, ISe+OS, RPE). Die Schichtdicken der Netzhaut wurden auf der Grundlage des ETDRS-Grids in 9 Sektoren separat untersucht. Diese Auswertung wurde gruppenbezogen durchgeführt. Viele vorangegangene Studien haben sich mit einer geringeren Patientenzahl befasst, ohne eine Gruppeneinteilung vorzunehmen. Der gruppenbezogene Vergleich gibt zusätzlich die Möglichkeit, den Krankheitsverlauf noch genauer zu charakterisieren. Diese Differenzierung des Krankheitsverlaufs zwischen einzelnen Gruppen kann z. B. hilfreich sein, um bestimmte Patienten für eine zukünftige Therapie auswählen zu können.

Die Aussagekraft der Daten war jedoch bei der Patientengruppe III aufgrund der starken Netzhautumorganisation sehr eingeschränkt.

4.7 Überlegungen bezüglich der Dicke der einzelnen Schichten bzw. Schichtgruppen

Das retinale Remodeling ist eine Konsequenz der retinalen Degeneration. Es geht um reaktive Veränderungen der Netzhaut aufgrund der Degeneration der Photorezeptoren. Auf zellulärer bzw. molekularer Ebene bedeutet dies, dass die Netzhaut im Rahmen der retinalen Degeneration dynamisch durch Änderung der Funktion und Morphologie der verbleibenden Zellen reagiert (Jones et al. 2012). Die drei Phasen des retinalen Remodelingsprozesses stellen sich wie folgt dar: Zu den ersten Veränderungen durch Photorezeptorstress gehört eine Umverteilung der Opsine in den Stäbchen und Zapfen. In der nächsten Phase kommt es zum Untergang von Photorezeptoren und zur Hypertrophie der Müllerzellen. Außerdem kommt es durch einen Verlust der Dendriten zu einer Trennung der Verbindung mit den Bipolarzellen, einer neuronalen Migration

und zur Bildung von sogenannten Mikroneuromen durch eine Neuritogenese. Diese Sprossung betrifft nicht nur die Bipolar-, sondern auch die Horizontal- und Amakrinzellen. In der letzten Phase kommt es zum Remodeling der Netzhaut mit einer Migration von Neuronen in der vertikalen Achse der Retina, einer Migration der überlebenden Bipolar- und Amakrinzellen in die Ganglienzellschicht und einer Invasion der neuralen Retina durch das RPE (Jones & Marc 2005),(Jones et al. 2012).

4.7.1 Nervenfaserschicht

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich die Nervenfaserschichtdicke (NFL) erhöht, mit Ausnahme des zentralen ETDRS-Grid-Sektors, in dem sie erniedrigt war. Es zeigte sich in den makulären superioren, inferioren und nasalen Sektoren (MS, MT, MI) eine stärkere Verdickung der NFL bei den Patienten der Gruppe II im Vergleich zur Gruppe I. Die Gruppe III war wegen des Vorhandenseins nur zwei auswertbarer Patienten nicht repräsentativ; die Patienten zeigten jedoch eine noch deutlichere Verdickung dieser Schicht bis in die peripheren Sektoren.

Die erhöhte Dicke der NFL könnte als reaktive Veränderung auf die starke Verdünnung der inneren Netzhautschichten erklärt werden. Somit kann dies als Ursache der immer ausgeprägteren Schäden der Netzhaut im Verlauf von Gruppe I über Gruppe II zu Gruppe III diskutiert werden.

Als Ursache der Verdickung ist ein Remodeling-Prozess mit neuronalem Verlust und Migration und Hypertrophie der Gliazellen als Reaktion auf diesen Verlust von Photorezeptoren denkbar (Jacobson et al. 2007). Auch eine mechanische Ursache der Verdickung im Sinne eines „Stretchings“ der NFL zur Auffüllung des freiwerdenden Raumes, der durch die Degeneration der Photorezeptoren entsteht, könnte als ein Erklärungsansatz dienen (Hood et al. 2009). Ebenso ist eine axonale Schwellung als Grund der NFL-Verdickung denkbar. In der bisherigen Literatur wurden lediglich Arbeiten beschrieben, die sich mit horizontalen Einzelscans befassten. Die Autoren dieser Arbeiten kamen zu ähnlichen Ergebnissen, wobei sich die Verdickung der NFL in der nasalen Retina am stärksten ausgeprägt zeigte (Hood et al. 2009). Aufgrund des Vergleichs der histologischen Studien ist die Hypothese der Proliferation der Gliazellen im Rahmen der Remodelingsprozesse am ehesten zutreffend. Der Erklärungsansatz, dass das Gliagewebe auf der Oberfläche der Retina die Ursache der gemessenen NFL-Verdickung sein könnte, indem es in den Segmentierungsalgorithmus einbezogen

wurde (Walia & Fishman 2009), ist bei der in der vorliegenden Arbeit verwendeten DiOCTA-Software unwahrscheinlich.

4.7.2 Ganglienzellschicht + Innere plexiforme Schicht (GCL+IPL)

Wie bereits beschrieben, wurden deutliche Unterschiede zwischen den Patienten der Gruppen I und II beobachtet. In den makulären Sektoren war die Schichtdicke der GCL+IPL der Gruppe I erniedrigt, die der Gruppe II im Vergleich zu den Normprobanden erhöht. In den peripheren Sektoren war die Dicke dieser beiden Gruppen ähnlich der Dicke der Normprobanden. Die Patienten der Gruppe I zeigten zwar nur zentrale Veränderungen, die mittlere Erkrankungsdauer war jedoch deutlich länger als von Patienten der Gruppe II. Die Verdünnung der Schichtgruppe GCL+IPL bei der Patientengruppe I könnte als Atrophie - sekundär zu reaktiven Veränderungen - interpretiert werden. Bei der Patientengruppe II bestand im Mittel eine kürzere Erkrankungsdauer, weshalb die reaktiven Veränderungen einschließlich Hypertrophie der Zellen (und dadurch die mittlere Dicke der GCL+IPL-Schichtgruppe) höher sind als bei den Normprobanden. Möglicherweise spielen hierbei ähnliche Prozesse eine Rolle wie sie als Erklärungsansätze im Abschnitt (4.7.1) beschrieben wurden, wonach die Verdickung der inneren Netzhautschichten als ein sekundäres Remodeling nach Degeneration der Photorezeptoren zu interpretieren wäre (Aleman et al. 2007),(Aleman et al. 2008). Andere histologische Studien zeigten eine Minderung der Anzahl der Ganglienzellen, die mit gleichzeitiger Minderung der Anzahl der Photorezeptoren einherging (Stone et al. 1992). Ebenso wurde ein Überleben von zahlreichen Neuronen und Ganglienzellen auch in schweren Formen der Retinitis pigmentosa beschrieben (Stone et al. 1992),(Santos et al. 1997),(Flannery et al. 1989). Reaktive Gliose des Gliagewebes (Müllerzellen, Astrozyten) mit einer Hypertrophie und retinaler Migration von Zellen wurde in den histologischen Studien an Augen von Patienten mit RP beobachtet (Milam et al. 1998).

Es wurde außerdem beobachtet, dass trotz signifikanten Verlusts von Photorezeptoren die Ganglienzellschicht normal blieb, was darauf hindeutet, dass nach dem Tod von Photorezeptoren die GCL-Schicht zunächst erhalten bleibt. Da Morbus Stargardt eine zentrifugale Netzhautdystrophie darstellt, die sich vom Zentrum der Netzhaut in die Peripherie ausbreitet, sind somit die peripheren Sektoren, die bei den hier untersuchten Patienten den Werten der Normprobanden ähnelten, wahrscheinlich noch am wenigsten von den reaktiven Veränderungen beeinträchtigt. Der Begriff

Remodeling schließt eine Transformation des Gliagewebes, eine neuronale Translokation, Verlust von Neuronen und eine Entstehung von ektopischen Komplexen von Neuriten ein (Jones & Marc 2005). Histologische Studien zeigten, dass die degenerierte Netzhaut sehr dynamisch neue Synapsen bildet und somit ihre Plastizität im Krankheitsverlauf zeigt.

Nicht zu vergessen bleibt die Tatsache, dass Patienten der Gruppe II einen fortgeschrittenen Netzhautschaden zeigten. Unter den peripheren Sektoren zeigte sich im temporalen Sektor ein deutlicher Unterschied zwischen Patientengruppe I und II. Die Arbeiten von Hood und Kollegen verzeichnen, dass in diesen Gebieten der Netzhaut, in welchen bereits physiologischerweise eine dünnere Nervenfaserschicht vorkommt, die Zunahme der Ganglienzellschicht auch als Dehnungsprozess interpretiert werden könnte (Hood et al. 2009).

Allerdings befasste sich die Studie von Hood mit RP-Patienten. Studien zu dieser Schichtgruppe bei Patienten mit *ABCA4*-Gen-Mutationen wurden zum aktuellen Kenntnisstand noch nicht durchgeführt. Durch die in dieser Arbeit angewendete DiOCTA-Software war es möglich, die GCL- und IPL-Schicht bei Patienten mit biallelischen Mutationen des *ABCA4*-Gens noch genauer zu untersuchen. Die gewonnenen Daten können dazu dienen, die erkrankungsbedingt veränderte Morphologie der Netzhaut besser zu verstehen.

4.7.3 Innere Körnerschicht + Äußere plexiforme Schicht + Äußere Körnerschicht + Membrana limitans interna + Photorezeptoraußensegment (INL+OPL+ONL+ELM+OS)

In dieser Dissertation wurde eine Einteilung der Netzhautschichten in fünf Schichtgruppen durchgeführt. Das Vorgehen orientierte sich an den Vorgaben und Empfehlungen, die aus der Studie von Ehnes und Kollegen hervorgehen (Ehnes et al. 2014). Diese Einteilung war aufgrund der starken Desorganisation der inneren Netzhautschichten durchaus sinnvoll. Bei der vorliegenden Pathologie war bei den Patienten der Gruppe III sogar die Einteilung in diese fünf Schichtgruppen nicht möglich.

In dieser Arbeit zeigte sich eine starke Verdünnung der Schichtgruppe INL+OPL+ONL+ELM+OS in allen untersuchten Segmenten des ETDRS-Grids. Interessant war zu beobachten, dass die Minderung der Dicke dieser Schichtgruppe

bei Patienten der Gruppe II im Vergleich zu Patienten der Gruppe I in den peripheren Sektoren noch stärker ausgeprägt war. Wie bereits oben gezeigt wurde, könnte es an dem ausgeprägteren Schaden bei der Erkrankung dieser Gruppe liegen.

Ein direkter Vergleich mit der Literatur ist nicht gegeben, da unterschiedliche Autoren unterschiedliche Schichten zusammengefasst haben. Auch die Anzahl der Studien, die sich mit den inneren Netzhautschichten befassen, ist begrenzt.

Die Ersten, die den inneren Netzhautschichten bei Patienten mit Mutationen im *ABCA4*-Gen Aufmerksamkeit schenken, waren Huang und Mitarbeiter. Die Autoren beobachteten, dass eine regionale Verdickung der INL mit einer entsprechenden Verdünnung der ONL korrelierte. Die Veränderungen der inneren Schichten (Laminopathie) wurden auch als ein Remodeling-Prozess gedeutet, welcher der Degeneration der Photorezeptoren folgt (Huang et al. 2014).

Eine weitere Arbeitsgruppe untersuchte bei Patienten mit Morbus Stargardt die Schichtdicken (peripapillär sowie in der Makula) von ONL+ (das bedeutet OPL+ONL) und OS, die sich vor allem in der temporalen im Vergleich zur nasalen Makula erniedrigt zeigten. Als mögliche Ursache wurde postuliert, dass die im Bereich der nasalen Makula vergleichsweise dickere RNFL einen gewissen Schutz der tiefer gelegenen Netzhautschichten vor lichtbedingtem oxidativem Stress darstellt. Auch in Regionen, in denen die RPE-Dicke normal war, zeigte sich die Dicke der ONL+-Schicht und OS-Schicht bereits verdünnt (Burke et al. 2011). Dies wurde so interpretiert, dass der Photorezeptorschaden der Atrophie des retinalen Pigmentepithels vorausgeht.

4.7.4 Innensegment-Ellipsoid + Photorezeptoraußensegment (ISe+OS)

Diese Schichtgruppe zeigte sich im zentralen und den makulären Sektoren verdünnt. Diese Ergebnisse decken sich mit denen der anderen Autoren (Burke et al. 2011),(Park et al. 2015a). Die Verdünnung war in diesen Bereichen stärker ausgeprägt als in den peripheren Sektoren (in denen die Werte teilweise in der Norm lagen), was wiederum mit der zentrifugalen Ausbreitung der Erkrankung einhergehen könnte. Die Autoren der letztgenannten Studie von Park et al. beschrieben einen Verlust der ISe-Schicht im Bereich der zentralen Läsion. Im Gegensatz zu dieser Studie hat der DiOCTA-Segmentierungsalgorithmus die Dicke der ISe-Schicht zusammen mit derjenigen der OS-Schicht berechnet, so dass diese Schichtgruppe zwar verdünnt, aber noch vorhanden war. Insgesamt war eine Segmentierung der Schichten bei dem

in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patientenkollektiv mit bereits fortgeschrittenen Veränderungen der zentralen Netzhaut erschwert. Das ist ein Aspekt, der diese Studie von der Studie von Park et al., die nur Patienten mit milden Veränderungen untersuchten, unterscheidet (Park et al. 2015a).

4.7.5 Retinales Pigmentepithel (RPE)

Die Dicke der RPE-Schicht zeigte sich bei den Patientengruppen I und II unerwartet normal. Warum die Dicke der RPE-Schicht in dieser Arbeit ähnlich wie bei den gesunden Probanden war, könnte zum einen an den hyperreflektiven Stellen liegen, die in die Auswertung mit aufgenommen wurden (mögliche RPE-Migration, RPE-Hypertrophie, retinale Flecken). Zum anderen unterscheidet der in dieser Arbeit angewandte Algorithmus das RPE nicht von der sogenannten Interdigitationszone (IZ), die bereits im Kapitel 2.2.1.1 ausführlich beschrieben wurde. Optisch war die genaue Grenze zwischen RPE und IZ bei dem untersuchten Patientenkollektiv nicht mehr sichtbar, so dass die Segmentierung inklusive der IZ erfolgte. Auch andere Arbeitsgruppen wurden gleichen Segmentierungsproblemen gegenübergestellt (Lima et al. 2013),(Park et al. 2015b). Allerdings wurden in der Studie von Park und Kollegen nur Patientenkollektive mit sehr milden zentralen Fundusveränderungen erfasst. Die Autoren beschrieben drei hyperreflektive Linien: EZ (hier ISe), IZ und RPE- Komplex. Die IZ war bei Park et al. bei den Normprobanden parafoveal und perifoveal besser zu detektieren als foveal und in der peripheren Region (12° von der Fovea entfernt). Bei STGD-Patienten war die IZ zentral, para- und perifoveal (also innerhalb der Läsion) unterbrochen. Peripher war bei Normprobanden die Hälfte der IZ detektierbar, bei den Stargardt-Patienten nur zu 26%. Die manuelle Segmentierung wurde dort von vier Experten vorgenommen. Es zeigten sich Unterschiede in der Bewertung zwischen den Experten, was darauf hinweist, dass die manuelle Segmentierung schwierig und nur eingeschränkt objektivierbar ist. Die Dicke der RPE-Schicht außerhalb der zentralen Läsion war bei Patienten und Normprobanden ähnlich. Bei einer anderen Untersuchung bei Patienten mit unterschiedlichen genetischen Ursachen einer Zapfen-Stäbchen-Dystrophie war die IZ bei allen untersuchten Patienten über den ganzen B-Scan nicht detektierbar. Die ELM und die EZ waren in der Fovea bei 83% bzw. 92% der Patienten (N = 20) nicht vorhanden (Lima et al. 2013).

Die Dicke der RPE-Schicht lag in dieser Dissertation nah an den Normwerten. Bereits bei den Normprobanden zeigte sich eine deutliche Streuung der Werte, was wahrscheinlich mit der reduzierten Auswertbarkeit der IZ-Linie zusammenhängt. Bei der manuellen Segmentierung bestand die Wahl, die sogenannte Pigmentmigration entweder von der Beurteilung auszuschließen oder mit aufzunehmen. Da die Migration bei dem größten Teil der Scans zu sehen war, wurde die RPE-Migration mit in die RPE-Schicht aufgenommen (siehe Abb. 12, Abschnitt 2.2.2). Vergleicht man diese hyperreflektiven Stellen mit histopathologischen Schnitten, stellt sich heraus, dass diese den reaktiven Lipofuszin-beladenen hyperplastischen RPE-Zellen entsprechen (Mullins et al. 2012),(Steinmetz et al. 1991). Diese rupturieren mit der Zeit und verursachen somit ein Verschwinden der RPE-Zelle (Steinmetz et al. 1991). Es gibt Studien, in denen Netzhautregionen mit solchen Veränderungen aus der Beurteilung ausgeschlossen wurden (Lazow et al. 2011). Zusammenfassend war die Vorgehensweise in dieser Dissertation sinnvoll, da die hyperreflektiven Stellen im eigentlichen Sinne und im Vergleich zu der Histologie als Teil der RPE-Schicht anzusehen sind.

Die in dieser Arbeit beschriebene Pigmentmigration könnte auch Ausdruck einer Überlebensfunktion der Retina sein. In der aktuellen Literatur zur SD-OCT wurden die hyperreflektiven Foci als Migration der Lipofuszingranula (überwiegend in die ONL, aber auch in die weiteren inneren Netzhautschichten und die Chorioidea) oder Drusen bzw. retinale Flecken zwar gefunden, jedoch nicht ursächlich untersucht (Piri et al. 2015),(Querques et al. 2006),(Querques et al. 2009),(Ho et al. 2011),(Gerth et al. 2007).

Die Dicke der RPE-Schicht wurde in dieser Dissertation aus dem RPE und der Bruchmembran gebildet. Da die SD-OCT-Technik und die DiOCTA-Software die Bruchmembran vom RPE nicht unterscheidet, war es nicht möglich, diese beiden Schichten zu trennen. Ritter und Kollegen (Ritter et al. 2013) beschrieben bei 14 STGD1-Patienten die Dicke der RPE-Schicht mit Hilfe von SD-OCT, FAF sowie Polarisations-sensitivem OCT (funktionelle Erweiterung des SD-OCT). Letzteres zeigt anhand der Veränderung der Polarisation des zurückgestreuten Lichtes des melaninhaltigen RPEs die Integration und Konfiguration der RPE-Schicht. Die Patienten wurden nach der Einteilung von Fishman (Fishman et al. 1999) eingruppiert. Eine Schwierigkeit bestand darin, die Grenze der RPE-Schicht genau mit dem SD-OCT darzustellen, da die exakte Unterscheidung zwischen dem verdünnten RPE und der Bruchmembran, die noch in Bereichen des RPE-Verlustes sichtbar ist, nicht möglich

war. Die Polarisations-sensitive OCT-Technik erlaubt eine Darstellung des Verlustes der Depolarisation des RPE (Ritter et al. 2013).

Histopathologische Studien zur Retina von Patienten mit Morbus Stargardt sind in der Literatur selten. In der Studie von Bonilha und Mitarbeitern wird die Retina von einem Stargardt-Patienten mit der Netzhaut eines gesunden Patienten verglichen (Bonilha et al. 2014). Zusammenfassend wird in der histologischen Studie eine Langlebigkeit von Zellen der inneren Netzhaut beobachtet, auch lange nach dem Verlust der Photorezeptorzellen. Die Histologie zeigte, dass sich in Arealen mit vollständigem Verlust der Photorezeptoren noch Areale mit restlichen RPE-Zellen befinden, so dass die Frage nach der Reihenfolge des Verlustes von RPE-Zellen und Photorezeptoren angesichts der *ABCA4*-Dysfunktion beantwortet werden konnte. Transkripte für Gene der inneren Netzhaut (Bipolarzellen, Amakrinzellen, Ganglienzellen) wurden noch lange nach dem Verlust des Sehens gefunden. Dieser Erhalt zumindest auf molekularer Ebene unterstützt die Möglichkeit einer erfolgreichen Therapie mit Stammzell-basiertem Photorezeptorersatz, eine optogenetische Sensibilisierung der inneren Netzhautneuronen oder elektrische Stimulation der inneren Retina auch spät im Verlauf der Erkrankung (Mullins et al. 2012).

4.8 Ausblick

Die in dieser Arbeit verwendete DiOCTA-Software erlaubte es, genaue Analysen der Struktur der einzelnen Netzhautschichten durchzuführen. Eine ständige Weiterentwicklung der OCT-Technik wird auch in Zukunft unerlässlich sein für ein besseres Verständnis der Morphologie der Netzhauterkrankungen, für eine exakte Diagnosestellung und für die Beurteilung der Behandlungseffekte (Wirtitsch et al. 2005).

Eine Limitierung der mit Hilfe der OCT-Technik durchgeführten Untersuchungen besteht darin, dass nur die Veränderungen der Reflexion gezeigt werden können, die nicht immer der Histologie entsprechen. Die Technik der adaptiven Optiken erlaubt eine transversale Auflösung von 2 μm , welche die genaue Struktur der Photorezeptoren sichtbar macht. Allerdings erlaubt sie bisher nur die Analyse kleiner Ausschnitte der Netzhaut. Eine Weiterentwicklung dieser Techniken könnte in Zukunft eine noch bessere Darstellung der Architektur der gesunden und pathologisch

veränderten Retina erlauben und damit zusätzliche Informationen auf der zellulären Ebene liefern (Zawadzki et al. 2005).

Die somatische Gentherapie ermöglicht das Einbringen von korrekten Genkopien in die Photorezeptoren, in denen der Defekt lokalisiert ist. Beim Morbus Stargardt wird derzeit eine humane Genadditionstherapie-Studie mit einem Lentivirus-Vektor der Firma Oxford Biomedica unter dem Namen StarGen geprüft (Han et al. 2014),(Stieger & Lorenz 2014). Im Tiermodell verliefen vergleichbare Versuche bereits erfolgreich (Binley et al. 2013). Es ist daher von entscheidender Bedeutung, das Krankheitsbild mit seinen morphologischen und funktionellen Parametern so exakt wie möglich zu charakterisieren, um zum einen die geeignetsten Patienten für eine Therapie definieren zu können und zum anderen, um den Effekt einer möglichen Therapie für den individuellen Patienten abschätzen zu können. Dazu ist es wichtig, entsprechende klinische Parameter zu identifizieren, die eine genaue Verlaufsbeurteilung ermöglichen.

Die in dieser Dissertation erbrachten Analysen können für die zukünftige Gentherapie nützlich sein. Mit der DiOCTA-Software können die Umbauprozesse der Netzhaut im Verlauf genauer verfolgt werden. So könnte auch während einer Therapie das Ansprechen der Behandlung durch die Veränderung der Schichtdicken verfolgt werden.

5 Zusammenfassung

Das *ABCA4*-Gen kodiert für das Transmembran-Transportprotein ABCA4, welches die Retinoid-Komponenten vom Disklumen über die Diskmembran in das Zytoplasma der Photorezeptoren transportiert. Bei den ABCA4-vermittelten Netzhautdystrophien kommt es aufgrund von Behinderungen des Transportes zur starken Akkumulation von toxischem A2E und dadurch zu einer Zerstörung der RPE-Zellen und zur Degeneration der Photorezeptoren und der nachgeschalteten Zellen.

Biallelische Mutationen des *ABCA4*-Gens verursachen ein Spektrum autosomal-rezessiv vererbter Netzhauterkrankungen. Die am häufigsten vorkommende Erkrankung davon ist der Morbus Stargardt.

Ziel dieser Dissertation war es, die Morphologie der zentralen Netzhaut bei Patienten mit Mutationen im *ABCA4*-Gen zu charakterisieren und zu systematisieren, um aus der Betrachtung morphologischer Daten und funktioneller Untersuchungen ein besseres Verständnis der Erkrankung zu erarbeiten.

Dafür wurden 25 Patienten mit biallelischen Mutationen des *ABCA4*-Gens untersucht. Die Patienten wurden anhand der Verteilung von Veränderungen der Fundusautofluoreszenz in Anlehnung an die Einteilung von Fishman et al. in drei Gruppen eingeteilt. Diese Gruppen wurden nach Untersuchungen der Morphologie und der Funktion miteinander verglichen. Für die Beurteilung wurden Informationen aus Anamnese, SD-OCT-Aufnahmen, Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen, Fundusphotographien, Visusbestimmung, Goldmann-Perimetrie, funduskontrollierter Perimetrie (MP1), Ganzfeld-ERG (Gf-ERG), multifokalem ERG (mf-ERG) und Panel-D15-Farbsehtest nach Lanthony herangezogen.

Bei den 25 Patienten wurden zwischen 2008 und 2014 mittels Spectral-Domain-OCT (SD-OCT, Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg) Volumenscans der zentralen Netzhaut durchgeführt. Die OCT-Volumenscans wurden mittels der von Ehnes und Kollegen entwickelten DiOCTA-Software (Ehnes et al. 2014) automatisch segmentiert, manuell korrigiert und anschließend sektorbezogen und gruppenbezogen ausgewertet. Es wurden Läsionsgrößen anhand der fehlenden ISe-Schicht ausgemessen und mit Parametern wie Visus, Patientenalter und Erkrankungsdauer verglichen.

In der gängigen Literatur wurden oft morphologische Netzhautveränderungen anhand von Einzelscans untersucht. Das Besondere an dieser Arbeit war die Verwendung von Volumenscans, durch die flächenbezogene Analysen der Netzhaut möglich waren.

Die durchgeführte Patientenanalyse zeigte gruppenspezifische Unterschiede in den morphologischen und den funktionellen Daten. Die erste Gruppe bildeten Patienten mit den am wenigsten ausgeprägten Veränderungen, die zweite Gruppe Patienten mit ausgeprägteren Schäden, kurzer Erkrankungsdauer und einem frühen Erkrankungsbeginn, die dritte Gruppe bildeten Patienten mit den am stärksten ausgeprägten Netzhautschäden.

Die Läsionsgrößen zeigten gruppenbezogene Unterschiede. Die Patienten der Gruppe III wiesen die größten Läsionen auf ($>28 \text{ mm}^2$). Bei dem Vergleich der Läsionsgröße mit dem Visus zeigte sich, dass bei Läsionsgrößen von mehr als 5 mm^2 der Visus (gruppenunabhängig) bereits sehr schlecht war. Patienten mit einer noch guten Sehschärfe präsentierten entweder ein „foveal sparing“-Phänomen oder Läsionsgrößen von weniger als 5 mm^2 . Es zeigte sich eine Tendenz, dass die Patienten der Gruppe II insgesamt jünger waren und eine kürzere Erkrankungsdauer im Vergleich zur Läsionsfläche aufwiesen als die Patienten der Gruppe I. Es zeigte sich außerdem eine Zunahme der Läsionsfläche im zeitlichen Verlauf.

Bezüglich der gruppen- und sektorbezogenen Schichtdicken der einzelnen Netzhautschichten zeigte sich im Vergleich zu Normprobanden eine Verdickung der NFL- sowie GCL+IPL-Schichten, eine starke Verdünnung der Schichtgruppe INL+OPL+ONL+ELM+IS, ISe+OS sowie der gesamten Netzhautdicke und eine normale Dicke des RPE.

Aufgrund der durch die fortgeschrittene Erkrankung starken Umorganisation der Netzhaut der Patienten der Gruppe III war es anhand der SD-OCT-Technik hier nicht mehr möglich, eine Einteilung in 5 Schichten durchzuführen.

Es ist von großer Bedeutung, Patienten mit einer langsameren Krankheitsprogression oder noch nicht weit fortgeschrittenem Erkrankungsprozess zu identifizieren, da bei diesen die Wirksamkeit einer Therapie am vielversprechendsten ist. Das Ziel ist eine Anwendung der Therapie bevor die Zellen der Retina weitgehend zerstört sind. Die in dieser Arbeit erbrachten Analysen könnten für die zukünftige Gentherapie der Erkrankung nützlich sein, um geeignete Patienten für solche Therapieansätze zu identifizieren.

6 Summary

The *ABCA4* gene encodes the ABCA4 protein, a photoreceptor-specific adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette transporter which transports the retinoid components from the disc lumen across the disc membrane to the cytoplasmic leaflet of the photoreceptors. This transport activity is reduced in *ABCA4*-mediated retinal dystrophies which lead to an excessive accumulation of A2E and thereby to the disfunction of RPE cells, a degeneration of photoreceptors and post-receptor cells.

Biallelic mutations in the *ABCA4* gene cause a wide spectrum of autosomal recessive retinal diseases. Stargardt disease is the most common macular dystrophy.

The aim of this study was to characterize and systemize the morphology of the central retina in patients with mutations in the *ABCA4* gene to develop a better understanding of the disease through the analysis of morphological data and functional tests.

25 patients with biallelic mutations of the *ABCA4* gene were examined. The patients were categorized in three groups based on the distribution of fundus autofluorescence according to the classification of Fishman et al. These groups were compared with each other according to the morphology and function. The information included the medical history, SD-OCT images, fundus autofluorescence images, fundus photographs, visual acuity, Goldmann perimetry, fundus controlled perimetry (MP1), full-field ERG (ffERG), multifocal ERG (mfERG) and the Panel D15 color vision test.

Volume scans of the central retina were acquired from all 25 patients from 2008 to 2014 by Spectral domain OCT (SD-OCT, Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg). The OCT volume scans were automatically segmented, manually corrected and then evaluated sector- and group-based using the DiOCTA software developed by Ehnes and colleagues (Ehnes et al. 2014). Lesion sizes of missing ISe layer were measured and compared with parameters such as visual acuity, patient age and disease duration.

In previous studies morphological retinal changes were often examined based on single scans while the analyses of the present study were based on volume scans. This provided the possibility to create an area-based analysis of the retina.

The analysis of the patients showed group-specific differences in the morphological and functional data. Group I consisted of patients with the least spread changes, group II consisted of patients with advanced damage, a short duration of disease and an early disease onset, group III consisted of patients with the most severe retinal damage.

The lesions presented group-related differences. Patients in group III showed the largest lesions ($>28\text{mm}^2$). When comparing the size of the lesion with the visual acuity, it could be shown that with lesion sizes of more than 5 mm^2 visual acuity was very poor (group-independent). Patients with a still good visual acuity presented either a "foveal sparing" phenomenon or lesion of less than 5 mm^2 . It could be observed that the patients of group II were younger and had a shorter duration of disease compared by the size of the lesion than the patients of group I. There was rather an increase in size of the lesion area over time. Regarding the group- and sectoral-dependent layer thicknesses of the individual layers of the retina (compared to healthy subjects) an elevated thickness of the NFL and GCL + IPL layers, a strong thinning of the layer group INL + OPL + ONL + ELM + IS, ISE + OS as well as of the entire retinal thickness and a normal thickness of the RPE could be demonstrated.

Due to an advanced disease and thereby a strong reorganization of the retina of patients in Group III it was no longer possible to identify the five retinal layers via the SD-OCT technology.

It is of great importance to identify patients with a slower disease progression or with not far advanced disease processes as they promise the greatest effectiveness of therapy. The objective is therefore to apply a therapy before most of the cells of the retina are destroyed.

The analyses conducted in this study could be useful for future gene therapy of the disease in order to identify appropriate patients for such therapies. This study takes an early step towards this topic.

7 Abkürzungsverzeichnis

ABCA4	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 4
AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
A2E	N-Retinylidene-N-Retinylethanolamin
A2PE	N-Retinylidene-N-Retinyl-Phosphatidylethanolamin
APE	N-Retinylidene-Phosphatidylethanolamin
arRP	autosomal-rezessiv Retinitis pigmentosa
ART	Automatic Real Time
at-RDH	all-trans Retinoldehydrogenase
CRAIBP	zelluläres Retinaldehyd-bindendes Protein
DiOCTA	Device independent OCT Analysis
ELM (OLM)	Membrana limitans externa (outer limiting membrane)
FAF	Fundusautofluoreszenz
ffERG	full-field-electroretinography (Ganzfeld-ERG)
GCL	Ganglienzellschicht (ganglion cell layer)
Gf-ERG	Ganzfeld-Elektroretinogramm
ILM	Innere Gliagrenzmembran (inner limiting membrane)
INL	Innere Körnerschicht (inner nuclear layer)
ISe	Innensegment-Ellipsoidschicht
IPL	Innere plexiforme Schicht (inner plexiform layer)
IRBP	Interphotorezeptor Retinoid-bindendes Protein

LEA	Lesetafeln nach Lea-Hyvärinen
LF	Lipofuszin
logMAR	negativer dekadischer Logarithmus des minimalen Auflösungswinkels (minimum angle of resolution)
LRAT	Lecithin-Retinol-Acyl-Transferase
mf-ERG	Multifokal-Elektroretinogramm
NFL	Nervenfaserschicht (nerve fiber layer)
OCT	Optische Kohärenztomographie
ONL	Äußere Körnerschicht (outer nuclear layer)
OPL	Äußere plexiforme Schicht (outer plexiform layer)
OPS	Rhodopsin oder Zapfenopsin
PE	Phosphatidylethanolamin
PIS (IS)	Photorezeptor-Innensegment (innersegment)
POS (OS)	Photorezeptor-Außensegment (outersegment)
RDH5	cis-11-retinol Dehydrogenase 5
RPE	Retinales Pigmentepithel (retinal pigment epithelium)
RPE 65	Isomerohydrolase, Retinal Pigmentepithelium 65kDa Protein
RVO	Retinale Venenverschlüsse (retinal vein occlusion)
SD-OCT	Spectral Domain Optische Kohärenztomographie
SLO	Scanning Laser Ophthalmoskop
STGD	Morbus Stargardt
XRP	X chromosomal Retinitis pigmentosa
ZSD	Zapfen-Stäbchen-Dystrophie

8 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Photorezeptorenverteilung	3
Abb. 2 Schematische Darstellung des Netzhautaufbaus	4
Abb. 3 Aufbau der Photorezeptoren	6
Abb. 4 Vitamin-A-Zyklus	8
Abb. 5 Model des Transportes von N-Retinylidene-Phosphatidyl-Ethanolamin durch das ABCA4-Protein über die Diskmembran	8
Abb. 7 Mechanismus der retinalen Schädigung durch Mutationen in ABCA4-Gen	12
Abb. 8 Vergleich der Visualisierung der Netzhautstrukturen im SD-OCT	25
Abb. 9 Schematische Darstellung des Aufbaus und des Messprinzips des SD- OCT	28
Abb. 10 SD-OCT A-Scan-, B-Scan-, C-Scan, 3D-Scandarstellungen eines gesunden Probanden	30
Abb. 11 ETDRS Grid	33
Abb. 12 Ein SD-OCT- Volumenscan der Netzhaut	34
Abb. 13 Hyperreflektive Stellen in der RPE-Schicht der Netzhäute bei ausgewählten Patienten	35
Abb. 14 Beispielhafte Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen eines Patienten der Gruppe I und eines Normprobanden	45
Abb. 15 Veränderungen der FAF der Patientin 2557_01 aus Patientenruppe I im Verlauf	45
Abb. 16 Beispiel für die FAF-Verteilung bei einem Patienten der Patientengruppe II (1827_01) im zeitlichen Verlauf im Alter von 11 Jahren und 15 Jahren	46
Abb. 17 FAF-Beispiel für die Patientengruppe III (Patient 1882_01)	47
Abb. 18 Beispielhafte Darstellung des Augenhintergrundes von Patienten der Gruppe I	57
Abb. 19 Beispielhafte Darstellung des Augenhintergrundes bei einem Patienten der Gruppe II	57
Abb. 20 Beispielhafte Darstellung des Augenhintergrundes bei Patienten der Gruppe II	58
Abb. 21 Beispiele einer mf-ERG-Untersuchung bei Patienten der Gruppe A) I, B) II und C) III	62
Abb. 22 MP1-Untersuchung der Patientin 1499_01 der Gruppe I	64
Abb. 23 MP1-Untersuchung bei einem Patienten der Gruppe II (1827_01) im zeitlichen Verlauf	65

Abb. 24 FAF- und OCT- Bilder der Patienten von A – G (1499_01, 2557_04, 1827_04, 2203_01, 2400_01, 2709_01, 2101_01) mit „foveal sparing“-Phänomen	71
Abb. 25 Bestimmung der Grenze der ISe-Schicht mit DiOCTA.....	76
Abb. 26 Visus im Vergleich zur Läsionsgröße	77
Abb. 27 Läsionsgröße im Vergleich zum Alter der Patienten (Querschnittsdaten)	79
Abb. 28 Läsionsgröße im Vergleich zur Erkrankungsdauer	80
Abb. 29 Läsionsgröße im Vergleich zum Alter der Patienten im zeitlichem Verlauf (longitudinale Daten).....	81
Abb. 30 Beispiele für die Auswertung der Netzhautschichtvermessung mit Hilfe der DiOCTA-Software	82
Abb. 31 Beispiel einer 30°-Infrarotaufnahme des Augenhintergrundes der Patientin 2557_01 mit eingeblendeter Falschfarbendarstellung der Dickenverteilung der Netzhautgesamtdicke (Thickness-Map) sowie zusätzlich dem ETDRS-Grid mit 9 Sektoren	83
Abb. 32 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke der Nervenfaserschicht (NFL) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids	84
Abb. 33 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke der Ganglienzellschicht mit der inneren plexiformen Schicht (GCL+IPL) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids	85
Abb. 34 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke der inneren Körnerschicht über die äußere plexiforme Schicht und äußere Körnerschicht mit Membrana limitans externa bis einschließlich Innensegment (INL+OPL+ONL+ELM+IS) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids.....	86
Abb. 35 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke der Innensegment-Ellipsoide mit den Photorezeptoraussensegmenten (ISe+OS) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids.....	88
Abb. 36 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke des retinalen Pigmentepithels (RPE) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids.....	89
Abb. 37 Graphische Darstellung der Verteilung der Schichtdicke der gesamten Netzhaut (NFL bis RPE) in den 9 Sektoren des ETDRS-Grids	90
Abb. 38 Thickness-Map-Darstellung der einzelnen Schichten und Schichtgruppen bei einem gesunden Probanden und bei je einem Patienten der Gruppe I und II	92

Abb. 39 Thickness-Map Darstellung der Dicke der gesamten Retina innerhalb eines C-Scans bei einem gesunden Probanden (A) und bei je einem Patienten der Gruppe I (B), II (C) und III (D).	92
---	----

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eine Übersicht über das in der Arbeit verwendeten SD-OCT-Gerät	21
Tabelle 2: Aufstellung der Mutationen der 25 Patienten.....	48
Tabelle 3: Einteilung der Patienten in drei Gruppen in Anlehnung an die Einteilung von Fishman und Mitarbeitern (Fishman et al. 1999)	50
Tabelle 4: Augenärztliche Daten der Patienten.....	53
Tabelle 5: Morphologische Daten der Patienten	58
Tabelle 6: Funktionelle Daten der Patienten	66
Tabelle 7: „foveal sparing“-Phänomen bei dem Patientenkollektiv	70

10 Literaturverzeichnis

- Alam, S. et al., 2006. Clinical Application of Rapid Serial Fourier-Domain Optical Coherence Tomography for Macular Imaging. *Ophthalmology*, 113(8), pp.1425–1431.
- Aleman, T.S. et al., 2007. Inner retinal abnormalities in X-linked retinitis pigmentosa with RPGR mutations. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 48(10), pp.4759–4765.
- Aleman, T.S. et al., 2008. Retinal laminar architecture in human retinitis pigmentosa caused by Rhodopsin gene mutations. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 49(4), pp.1580–1591.
- Allikmets, R., Singh, N., et al., 1997. A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy. *Nature genetics*, 15(3), pp.236–246.
- Allikmets, R., 2000. Further Evidence for an Association of ABCR Alleles with Age-Related Macular Degeneration. *American journal of human genetics*, 67(2), pp.487–491.
- Allikmets, R., Shroyer, N.F., et al., 1997. Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration. *Science (New York, N.Y.)*, 277(5333), pp.1805–1807.
- Anger, E.M. et al., 2004. Ultrahigh resolution optical coherence tomography of the monkey fovea. Identification of retinal sublayers by correlation with semithin histology sections. *Experimental Eye Research*, 78(6), pp.1117–1125.
- Apfelstedt-Sylla E., Zrenner E. Elektrophysiologie, 2003, in Schiefer, U. et al., 2003. *Praktische Neuroophthalmologie*, Kaden, pp.81-90.
- Armstrong, J.D. et al., 1998. Long-term follow-up of Stargardt's disease and fundus flavimaculatus. *Ophthalmology*, 105(3), pp.448–458.
- Augustin, A., 2007. *Augenheilkunde*, Berlin: Springer.
- Bach, M. & Kellner, U., 2000. Elektrophysiologische Diagnostik in der Ophthalmologie. *Ophthalmologie*, 97, pp.898–920.
- Becker, R. & Gräf, M., 2004. Die Darstellung der Sehschärfe bei ophthalmologischen Publikationen. *Klin Monbl Augenheilkd*, 221, pp.1046–1050.
- Beharry, S., Zhong, M. & Molday, R.S., 2004. N-retinylidene-phosphatidylethanolamine is the preferred retinoid substrate for the photoreceptor-specific ABC transporter ABCA4 (ABCR). *Journal of Biological Chemistry*, 279(52), pp.53972–53979.
- Beit-Ya'acov, A. et al., 2007. Homozygosity for a novel ABCA4 founder splicing mutation is associated with progressive and severe Stargardt-like disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 48(9), pp.4308–4314.
- Bindewald, A. et al., 2005. cSLO digital fundus autofluorescence imaging. *Der*

Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, 102(3), pp.259–264.

- Binley, K. et al., 2013. Transduction of photoreceptors with equine infectious anemia virus lentiviral vectors: Safety and biodistribution of stargen for stargardt disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 54(6), pp.4061–4071.
- Birch, D.G. et al., 2015. Rates of decline in regions of the visual field defined by frequency-domain optical coherence tomography in patients with RPGR-mediated X-linked retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*, 122(4), pp.833–839.
- Birch, D.G. et al., 2013. Spectral-domain optical coherence tomography measures of outer segment layer progression in patients with X-linked retinitis pigmentosa. *JAMA ophthalmology*, 131(9), pp.1143–50.
- Birch, D.G. et al., 2001. Visual function in patients with cone-rod dystrophy (CRD) associated with mutations in the ABCA4 (ABCR) gene. *Experimental eye research*, 73(6), pp.877–886.
- Birnbach, C.D. et al., 1994. Histopathology and Immunocytochemistry of the Neurosensory Retina in Fundus Flavimaculatus. *Ophthalmology*, 101(7), pp.1211–1219.
- Birnbach, C.D. et al., 1994. *Histopathology and immunocytochemistry of the neurosensory retina in fundus flavimaculatus*.
- Blacharski, P., 1988. *Fundus flavimaculatus*. In: Newsome D.A. (ed.): *Retinal dystrophies and degenerations*, New York: Raven Press.
- Bolz, H., 2005. Die Genetik der retinalen Dystrophien-ein Überblick. *Ophthalmologe*, 102, pp.651–673.
- Bonilha, V.L. et al., 2014. Retinal Histopathology in Eyes from a Patient with Stargardt disease caused by Compound Heterozygous ABCA4 Mutations. *Ophthalmic genetics*, (April), pp.1–11.
- Borst, P., Zelcer, N. & van Helvoort, A., 2000. ABC transporters in lipid transport. *Biochimica et biophysica acta*, 1486(1), pp.128–144.
- Bowl, W., 2013. Funduskontrollierte Perimetrie zur Überprüfung der Schwellenwerte retinaler Sensitivität
- Boyer, N.P. et al., 2012. Lipofuscin and N-retinylidene-N-retinylethanolamine (A2E) accumulate in retinal pigment epithelium in absence of light exposure: Their origin is 11-cis-Retinal. *Journal of Biological Chemistry*, 287(26), pp.22276–22286.
- Burke, T.R. et al., 2011. Quantification of peripapillary sparing and macular involvement in Stargardt disease (STGD1). *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 52(11), pp.8006–8015.
- Burke, T.R. et al., 2014. Quantitative Fundus Autofluorescence in Recessive Stargardt Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55, pp.2841–2852.
- Burke, T.R. et al., 2012. Retinal Phenotypes in Patients Homozygous for the G1961E Mutation in the ABCA4 Gene. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*,

- 53(8), pp.4458–4467.
- Carroll, J. et al., 2013. Adaptive optics retinal imaging—clinical opportunities and challenges. *Current Eye Research*, 38(7), pp.709–721.
- Chappelow A.V., Traboulsi E.I., 2012. Stargardt disease in Traboulsi, E.I., 2012. *Genetic Diseases of the Eye*, New York: Oxford University Press, pp.467–475.
- Chen, B. et al., 2010. Analysis of Autofluorescent retinal images and measurement of atrophic lesion growth in Stargardt disease. *Experimental Eye Research*, 91(2), pp.143–152.
- Chen, Y. et al., 2011. Cone photoreceptor abnormalities correlate with vision loss in patients with Stargardt Disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 52(6), pp.3281–3292.
- Cho, S.C. et al., 2013. Morphologic characteristics of the outer retina in cone dystrophy on spectral-domain optical coherence tomography. *Korean journal of ophthalmology: KJO*, 27(1), pp.19–27.
- Chun, R. et al., 2014. The value of retinal imaging with infrared scanning laser ophthalmoscopy in patients with stargardt disease. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 34(7), pp.1391–9.
- Cideciyan, A. V. et al., 2009. ABCA4 disease progression and a proposed strategy for gene therapy. *Human Molecular Genetics*, 18(5), pp.931–941.
- Cideciyan, A. V. et al., 2004. Mutations in ABCA4 result in accumulation of lipofuscin before slowing of the retinoid cycle: A reappraisal of the human disease sequence. *Human Molecular Genetics*, 13(5), pp.525–534.
- Coscas, G., 2009. Principles of OCT. In *Optical Coherence Tomography in Age-Related Macular Degeneration: OCT in AMD*.
- Coupland S.E., Bechrakis N.E., 2008. Anatomie von Netzhaut, Aderhaut, Glaskörper, in Kellner, U., 2008. *Retina*, Stuttgart: Thieme, pp.1-8.
- Cremers, F.P.M. et al., 1998. Autosomal recessive retinitis pigmentosa and cone-rod dystrophy caused by splice site mutations in the Stargardt's disease gene ABCR. *Human Molecular Genetics*, 7(3), pp.355–362.
- Curcio, C.A., Medeiros, N.E. & Millican, C.L., 1996. Photoreceptor loss in age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*, 37(7), pp.1236–49.
- Curcio, C.A. et al., 1990. Human photoreceptor topography. *The Journal of comparative neurology*, 292(4), pp.497–523.
- Curcio, C.A., Allen K., 1990. Topography of ganglion cells in human retina. *The journal of comparative Neurology*, 300, pp5-25.
- Dawson, R.J.P., Hollenstein, K. & Locher, K.P., 2007. Uptake or extrusion: Crystal structures of full ABC transporters suggest a common mechanism. *Molecular Microbiology*, 65(2), pp.250–257.

- Dean, M. & Allikmets, R., 2001. Complete characterization of the human ABC gene family. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 33(6), pp.475–479.
- Delori, F. et al., 2011. Quantitative Measurements of Autofluorescence with the Scanning Laser Ophthalmoscope. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(13), pp.9379–9390.
- Delori, F.C. et al., 1995. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 36(3), pp.718–729.
- Delori, F.C. et al., 1995. In-Vivo Measurement of Lipofuscin in Stargardts-Disease - Fundus Flavimaculatus. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 36(11), pp.2327–2331.
- Drexler, W. et al., 2003. Enhanced visualization of macular pathology with the use of ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Archives of Ophthalmol.* 121(5), pp.695-706.
- Drexler, W., 1995. Measurement of the thickness of fundus layers by partial coherence tomography. *Optical Engineering*, 34(3), p.701.
- Drexler, W. et al., 2001. Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature medicine*, 7(4), pp.502–507.
- Drexler, W. & Fujimoto, J.G., 2008. State-of-the-art retinal optical coherence tomography. *Progress in Retinal and Eye Research*, 27(1), pp.45–88.
- Ducroq, D. et al., 2006. Three different ABCA4 mutations in the same large family with several consanguineous loops affected with autosomal recessive cone-rod dystrophy. *European journal of human genetics : EJHG*, 14(12), pp.1269–1273.
- Duncker, T. et al., 2014. Correlations among near-infrared and short-wavelength autofluorescence and spectral-domain optical coherence tomography in recessive Stargardt disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55(12), pp.8134–8143.
- Duncker, T. et al., 2015. Quantitative Fundus Autofluorescence and Optical Coherence Tomography in PRPH2/RDS- and ABCA4-Associated Disease Exhibiting Phenotypic Overlap. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 56(5), pp.3159–3170.
- Ehnes, A. et al., 2014. Optical Coherence Tomography (OCT) Device Independent Intraretinal Layer Segmentation. *Translational vision science & technology*, 3(1)
- Ergun, E. et al., 2005. Assessment of central visual function in Stargardt's disease/fundus flavimaculatus with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 46(1), pp.310–316.
- Fafowora O, Gorin M.B., 2012. Genetics of age-related maculopathy in Traboulsi, E.I., 2012. *Genetic Diseases of the Eye*, New York: Oxford University Press, pp.543-573.
- Fercher, A., Hitzenberger, C. & Drexler, W., 1993. In vivo optical coherence tomography. *American Journal of Ophthalmology*.
- Fercher, A.F., 2010. Optical coherence tomography - development, principles, 130

- applications. *Zeitschrift für medizinische Physik*, 20(4), pp.251–76.
- Fercher, A.F., Mendedoht, K. & Werner, W., 1988. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics letters*, 13(3), pp.186–188.
- Fishman, G.A. et al., 2003. ABCA4 gene sequence variations in patients with autosomal recessive cone-rod dystrophy. *Archives of ophthalmology*, 121(6), pp.851–855.
- Fishman, G.A. et al., 1999. Variation of clinical expression in patients with Stargardt dystrophy and sequence variations in the ABCR gene. *Archives of ophthalmology*, 117(4), pp.504–510.
- Fishman, G.A. et al., 1987. Visual acuity loss in patients with Stargardt's macular dystrophy. *Ophthalmology*, 94(7), pp.809–814.
- Flannery, J.G. et al., 1989. Degenerative changes in a retina affected with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30(2), pp.191–211.
- Fleckenstein, M. & Wolf-Schnurrbusch, U., 2010. Bildgebende Diagnostik bei geographischer Atrophie. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 107, pp.1007–1015.
- Fleckstein, M. Holz F.G., 2008. Fundusautofluoreszenz, in Kroll, P. Küchle, M. & Küchle, H., 2008. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden* P. Kroll, ed., Stuttgart: Thieme, pp.425-435.
- Flores, M. et al., 2015. Reflectivity of the Outer Retina on Spectral-Domain Optical Coherence Tomography as a Predictor of Photoreceptor Cone Density. *Am J Ophthalmol*, 160(3), pp.588–595.
- Franceschetti, A., 1965. A special form of tapetoretinal degeneration: fundus flavimaculatus. *Trans Am Acad*, 69, pp.1048–1053.
- Fritsche, L.G. et al., 2012. A subgroup of age-related macular degeneration is associated with mono-allelic sequence variants in the ABCA4 gene. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 53(4), pp.2112–2118.
- Fujinami, K., Lois, N., et al., 2013. A longitudinal study of Stargardt disease: quantitative assessment of fundus autofluorescence, progression, and genotype correlations. *Investigative ophthalmology & visual science*, 54(13), pp.8181–8190.
- Fujinami, K., Sergouniotis, P.I., et al., 2013. Clinical and molecular analysis of stargardt disease with preserved foveal structure and function. *American Journal of Ophthalmology*, 156(3).
- Fujinami, K. et al., 2015. Clinical and molecular characteristics of childhood-onset Stargardt disease. *Ophthalmology*, 122(2), pp.326-334.
- Fujinami, K. et al., 2011. Stargardt disease with preserved central vision: identification of a putative novel mutation in ATP-binding cassette transporter gene. *Acta Ophthalmol*, 89(3), pp.297–298.
- Garrison, F., 1929. Ramon Y Cajal. *Bull N Y Acad Med*, 5(6), pp.482–508.

- Gerth, C. et al., 2002. Phenotypes of 16 Stargardt macular dystrophy/fundus flavimaculatus patients with known ABCA4 mutations and evaluation of genotype-phenotype correlation. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 240, pp.628–638.
- Gerth, C. et al., 2007. Visualization of lipofuscin accumulation in Stargardt macular dystrophy by high-resolution Fourier-domain optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*, 125(4), p.575.
- Glazer, L.C. & Dryja, T.P., 2002. Understanding the etiology of Stargardt's disease. *Ophthalmol Clin North Am*, 15(1), pp.93–100.
- Gloesmann, M. et al., 2003. Histologic correlation of pig retina radial stratification with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 44(4), pp.1696–1703.
- Goldberg, N.R. et al., 2013. Outer Retinal Tubulation in Degenerative Retinal Disorders. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, pp.1–6.
- Gomes, N.L. et al., 2009. A comparison of fundus autofluorescence and retinal structure in patients with stargardt disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 50(8), pp.3953–3959.
- Grajciar, B. et al., 2005. Parallel Fourier domain optical coherence tomography for in vivo measurement of the human eye. *Optics Express*.
- Gräf, 2007. Sehschärfestimmung, in : Kroll, P., Küchle, M. & Küchle, H., 2008. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden* P. Kroll, ed., Stuttgart: Thieme, pp.1-21.
- Greenstein, V.C. et al., 2015. Near-infrared autofluorescence: its relationship to short-wavelength autofluorescence and optical coherence tomography in recessive stargardt disease. *Ophthalmol Vis sci*, 56(5), pp.3226–3234.
- Grehn, F., 2008. *Augenheilkunde*, Berlin: Springer Medizin Verlag.
- Guymier, R.H. et al., 2001. Variation of codons 1961 and 2177 of the Stargardt disease gene is not associated with age-related macular degeneration. *Archives of ophthalmology*, 119(5), pp.745–751.
- Han, Z., Conley, S.M. & Naash, M.I., 2014. Gene therapy for Stargardt disease associated with ABCA4 gene. *Adv Exp Med Biol*, 801, pp.719–724.
- Harmening, W., 2014. Adaptive Optiken- Ophthalmologische Bildgebung und Funktionsdiagnostik. *Augenspiegel*, 11, pp.28–32.
- Hee, M.R. et al., 1995. Optical coherence tomography of the human retina. *Archives of ophthalmology*, 113(3), pp.325–332.
- Heimann, H. & Kellner, U., 2010. *Atlas des Augenhintergrundes*, Stuttgart: Thieme.
- Higgins, C.F., 1992. ABC transporters: from microorganism to man. *Annual Review Cell Biol*, 8, pp.63–113.
- Ho, J. et al., 2011. Documentation of intraretinal retinal pigment epithelium migration via high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography.

- Ophthalmology*, 118(4), pp.687–693.
- Hoerauf, H. et al., 2002. Transscleral optical coherence tomography--an experimental study in ex-vivo human eyes. *Lasers in surgery and medicine*, 30(3), pp.209–215.
- Hollenstein, K., Dawson, R.J. & Locher, K.P., 2007. Structure and mechanism of ABC transporter proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 17(4), pp.412–418.
- Holmes, J., 2009. OCT technology development: Where are we now? A commercial perspective. *Journal of Biophotonics*, 2(6-7), pp.347–352.
- Holz, F.G. et al., 1999. Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 40(3), pp.737–743.
- Hood, D.C. et al., 2012. ISCEV standard for clinical multifocal electroretinography (mfERG) (2011 edition). *Documenta Ophthalmologica*, 124(1), pp.1–13.
- Hood, D.C. et al., 2011. The transition zone between healthy and diseased retina in patients with retinitis pigmentosa. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(1), pp.101–108.
- Hood, D.C. et al., 2009. Thickness of receptor and post-receptor retinal layers in patients with retinitis pigmentosa measured with frequency-domain optical coherence tomography. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 50(5), pp.2328–2336.
- Huang, D. et al., 1991. Optical coherence tomography. *Science*, 254(5035), pp.1178–1181.
- Huang, D. et al., 2005. *Retinal Imaging*, Philadelphia: Elsevier.
- Huang, W.C. et al., 2014. Inner and outer retinal changes in retinal degenerations associated with ABCA4 mutations. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 55(3), pp.1810–1822.
- Huang, Y. et al., 1998. Relation of optical coherence tomography to microanatomy in normal and rd chickens. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 39(12), pp.2405–2416.
- Illing, M., Molday, L.L. & Molday, R.S., 1997. The 220-kDa rim protein of retinal rod outer segments is a member of the ABC transporter superfamily. *Journal of Biological Chemistry*, 272(15), pp.10303–10310.
- Itabashi, R. et al., 1993. Stargardt's disease/fundus flavimaculatus: Psychophysical and electrophysiologic results. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 231(10), pp.555–562.
- Jacobson, S.G. et al., 2007. Evidence for retinal remodelling in retinitis pigmentosa caused by PDE6B mutation. *Br J Ophthalmol*, 91(5), pp.699–701.
- Jonas, J.B., Schneider, U. & Naumann, G.O.H., 1992. Count and density of human retinal photoreceptors. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 230(6), pp.505–510.

- Jones, B.W. et al., 2012. Retinal remodeling. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 56, pp.289–306.
- Jones, B.W. & Marc, R.E., 2005. Retinal remodeling during retinal degeneration. *Experimental Eye Research*, 81(2), pp.123–137.
- Kaminski, W.E., Piehler, A. & Wenzel, J.J., 2006. ABC A-subfamily transporters: Structure, function and disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1762(5), pp.510–524.
- Kanski, J.J. & Bowling, B., 2008. *Klinische Ophthalmologie*, München: Urban und Fischer.
- Kaplan, J. et al., 1993. A gene for Stargardt's disease (fundus flavimaculatus) maps to the short arm of chromosome 1. *Nature genetics*, 5(3), pp.308–311.
- Karlstetter M, Langmann T. Microglia in the aging retina. *Advances in experimental medicine and biology*. 2014. p. 207–12.
- Kellner, U., 2008. *Retina*, Stuttgart: Thieme.
- Kellner, U. & Kellner, S., 2009. Klinik und Diagnostik der Zapfendystrophien. *Ophthalmologie*, 106, pp.99–108.
- Kitiratschky, V.B.D. et al., 2008. ABCA4 gene analysis in patients with autosomal recessive cone and cone rod dystrophies. *European journal of human genetics : EJHG*, 16(7), pp.812–819.
- Kjellström, U., 2014. Association between genotype and phenotype in families with mutations in the ABCA4 gene. *Molecular vision*, 20(January), pp.89–104.
- Klevering, B.J. et al., 2004. Microarray-based mutation analysis of the ABCA4 (ABCR) gene in autosomal recessive cone-rod dystrophy and retinitis pigmentosa. *European journal of human genetics : EJHG*, 12(12), pp.1024–1032.
- Klevering, B.J. et al., 2002. Phenotypic spectrum of autosomal recessive cone-rod dystrophies caused by mutations in the ABCA4 (ABCR) gene. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 43(6), pp.1980–1985.
- Klevering, B.J. et al., 2005. The spectrum of retinal phenotypes caused by mutations in the ABCA4 gene. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 243(2), pp.90–100.
- Koenekoop, R.K., 2003. The gene for Stargardt disease, ABCA4, is a major retinal gene: a mini-review. *Ophthalmic Genetics*, 24, pp.75–80.
- Kolb, H. et al., The organisation of the retina and the visual system. *Webvision*.
- Kray, S. et al., 2008. Dual femtosecond laser multiheterodyne optical coherence tomography. *Optics letters*, 33(18), pp.2092–2094.
- Kroll, P., Küchle, M. & Küchle, H., 2008. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden* P. Kroll, ed., Stuttgart: Thieme.
- De La Paz, M.A. et al., 1999. *Analysis of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration*.

- Lambertus, S. et al., 2015. Early-onset stargardt disease: phenotypic and genotypic characteristics. *Ophthalmology*, 122(2), pp.335-344.
- Lang, H.W., 2012. *Algorithmen in Java* 3rd ed., Oldenburg.
- Lazow, M.A. et al., 2011. Transition zones between healthy and diseased retina in choroideremia (CHM) and stargardt disease (STGD) as compared to retinitis pigmentosa (RP). *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 52(13), pp.9581-9590.
- Lee, W. et al., 2014. The external limiting membrane in early-onset stargardt disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55(10), pp.6139-6149.
- Legarreta, J.E. et al., 2008. Macular thickness measurements in normal eyes using spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmic surgery, lasers & imaging: the official journal of the International Society for Imaging in the Eye*, 39(4 Suppl), pp.S43-9.
- Leung, C.K. et al., 2008. Comparison of macular thickness measurements between time domain and spectral domain optical coherence tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(11), pp.4893-4897.
- Levin, L. et al., 2011. *Adler's physiology of the eye*, Edinburgh: Elsevier.
- Lim, J.I. et al., 2008. A Pilot Study of Fourier-Domain Optical Coherence Tomography of Retinal Dystrophy Patients. *American Journal of Ophthalmology*, 146(3).
- Lima, L.H., Sallum, J.M.F. & Spaide, R.F., 2013. Outer retina analysis by optical coherence tomography in cone-rod dystrophy patients. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 33(9), pp.1877-80.
- Lois, N. et al., 2004. Fundus autofluorescence in stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *American Journal of Ophthalmology*, 138(1), pp.55-63.
- Lois, N. et al., 1999. Intrafamilial variation of phenotype in Stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 40(11), pp.2668-2675.
- Lois, N. et al., 2001. Phenotypic subtypes of Stargardt macular dystrophy-fundus flavimaculatus. *Archives of ophthalmology*, 119(3), pp.359-369.
- Lorenz, B. & Preising, M.N., 2005. Age matters--thoughts on a grading system for ABCA4 mutations. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 243(2), pp.87-89.
- Lujan, B.J. et al., 2011. Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(3), pp.1486-1492.
- Martínez-Mir, A. et al., 1997. A new locus for autosomal recessive retinitis pigmentosa (RP19) maps to 1p13-1p21. *Genomics*, 40(1), pp.142-146.
- Mata, N.L. et al., 2001. Delayed dark-adaptation and lipofuscin accumulation in abcr+/- mice: Implications for involvement of ABCR in age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 42(8), pp.1685-1690.

- Mata, N.L., Weng, J. & Travis, G.H., 2000. Biosynthesis of a major lipofuscin fluorophore in mice and humans with ABCR-mediated retinal and macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(13), pp.7154–7159.
- Matt, G. et al., 2011. Comparison of retinal thickness values and segmentation performance of different OCT devices in acute branch retinal vein occlusion. *Eye (London, England)*, 25(4), pp.511–518.
- Maugeri, A. et al., 2000. Mutations in the ABCA4 (ABCR) gene are the major cause of autosomal recessive cone-rod dystrophy. *American journal of human genetics*, 67(4), pp.960–966.
- McCulloch, D.L. et al., 2015. ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update). *Documenta Ophthalmologica*, 130, pp.1–12.
- Milam, A.H., Li, Z.Y. & Fariss, R.N., 1998. Histopathology of the human retina in retinitis pigmentosa. *Progress in Retinal and Eye Research*, 17(97), pp.175–205.
- Molday, L.L., Rabin, A.R. & Molday, R.S., 2000. ABCR expression in foveal cone photoreceptors and its role in Stargardt macular dystrophy. *Nature genetics*, 25(3), pp.257–258.
- Molday, R. et al., 2006. Binding of N-retinylidene-PE to ABCA4 and a model for its transport across membranes. *Adv Exp Med Biol*, 572, pp.465–470.
- Molday, R.S., Zhong, M. & Quazi, F., 2009. The role of the photoreceptor ABC transporter ABCA4 in lipid transport and Stargardt macular degeneration. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(7), pp.573–583.
- Moul, E. et al., 2014. Ultrahigh-Speed Swept-Source OCT Angiography in Exudative AMD 2014. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*, 45(6), pp.496–505.
- Mullins, R.F. et al., 2012. Autosomal recessive retinitis pigmentosa due to ABCA4 mutations: clinical, pathologic, and molecular characterization. *Investigative ophthalmology & visual science*, 53(4), pp.1883–1894.
- Osterberg, G., 1935. Topography of the layer of rods and cones in the human retina. *Acta Ophthalmologica*, 6, pp.1–103.
- Oyster, C., 1999. *The Human Eye: Structure and Function*, Sunderland: Sinauer Associates Inc.
- Papernaster, D.S. et al., 1978. Immunocytochemical localization of a large intrinsic membrane protein to the incisures and margins of frog rod outer segment disks. *Journal of Cell Biology*, 78(2), pp.415–425.
- Pappuru, R.R. et al., 2011. Clinical Significance of B-Scan Averaging With SD-OCT. *Ophthalmic Surgery, Lasers, and Imaging*, 43(1), pp.63–68.
- Parish, C.A. et al., 1998. Isolation and one-step preparation of A2E and iso-A2E, fluorophores from human retinal pigment epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(25), pp.14609–14613.

- Park, J.C. et al., 2015a. Objective analysis of hyperreflective outer retinal bands imaged by optical coherence tomography in patients with Stargardt Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56, pp.4662–4667.
- Park, J.C. et al., 2015b. Objective Analysis of Hyperreflective Outer Retinal Bands Imaged by Optical Coherence Tomography in Patients With Stargardt Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 56(8), pp.4662–4667.
- Piri, N., Nesmith, B. & Schaal, S., 2015. Choroidal hyperreflective foci in Stargardt disease shown by spectral-domain optical coherence tomography imaging: correlation with disease severity. *JAMA Ophthalmol*, 133(4), pp.398–405.
- Polyak, S., 1968. *The vertebrate visual system: its origin, structure, and function, and its manifestations in disease with an analysis of its role in the life of animals and in the origin of man*, Chicago: The University of Chicago Press.
- Preising, M.N. & Lorenz, B., 2009. [Genetic diseases of the retinal pigment epithelium]. *Genetische Erkrankungen des retinalen Pigmentepithels.*, 106(4), pp.311–319.
- Preising, M.N., Stieger, K. & Lorenz, B., 2014a. Genetik ophthalmologischer Erkrankungen. Teil 1: Genetische Grundlagen und Phänotypen. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 231(2), pp.179–191.
- Preising, M.N., Stieger, K. & Lorenz, B., 2014b. Genetik ophthalmologischer Erkrankungen. Teil 2: Diagnostik und Therapiekonzepte. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 231(2).
- Puliafito, C.A. et al., 1995. *Imaging of macular diseases with optical coherence tomography*.
- Quazi, F. & Molday, R.S., 2014. ATP-binding cassette transporter ABCA4 and chemical isomerization protect photoreceptor cells from the toxic accumulation of excess 11-cis-retinal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(13), pp.5024–9.
- Querques, G. et al., 2006. Analysis of retinal flecks in fundus flavimaculatus using optical coherence tomography. *The British journal of ophthalmology*, 90(9), pp.1157–1162.
- Querques, G. et al., 2009. In vivo visualization of photoreceptor layer and lipofuscin accumulation in Stargardt's disease and fundus flavimaculatus by high resolution spectral-domain optical coherence tomography. *Clinical Ophthalmology*, 3(1), pp.693–699.
- Ray, R., Stinnett, S.S. & Jaffe, G.J., 2005. Evaluation of image artifact produced by optical coherence tomography of retinal pathology. *American Journal of Ophthalmology*, 139(1), pp.18–29.
- Ritter, M. et al., 2013. Characterization of Stargardt disease using polarization-sensitive optical coherence tomography and fundus autofluorescence imaging. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 54(9), pp.6416–6425.
- Robson, A.G. et al., 2006. Functional characterisation and serial imaging of abnormal

- fundus autofluorescence in patients with retinitis pigmentosa and normal visual acuity. *The British journal of ophthalmology*, 90(4), pp.472–479.
- Rotenstreich, Y., Fishman, G.A. & Anderson, R.J., 2003. Visual acuity loss and clinical observations in a large series of patients with Stargardt disease. *Ophthalmology*, 110(6), pp.1151–1158.
- Rózanowska, M. et al., 1998. Blue light-induced singlet oxygen generation by retinal lipofuscin in non-polar media. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(7-8), pp.1107–1112.
- Rudolph, G. et al., 2002. *Mutations in the ABCA4 gene in a family with Stargardt's disease and retinitis pigmentosa (STGD1/RP19)*.
- Rüther K., Becker R., 2008, Elektrophysiologie in Kroll, P., Küchle, M. & Küchle, H., 2008. *Augenärztliche Untersuchungsmethoden* P. Kroll, ed., Stuttgart: Thieme pp.567- 590.
- Saari, J.C., 2012. Vitamin A Metabolism in Rod and Cone Visual Cycles. *Annual Review of Nutrition*, 32(1), pp.125–145.
- Sadda, S.R. et al., 2006. Errors in retinal thickness measurements obtained by optical coherence tomography. *Ophthalmology*, 113(2), pp.285–293.
- Santos, A. et al., 1997. Preservation of the Inner Retina in Retinitis Pigmentosa: A Morphometric Analysis. *Archives of Ophthalmology*, 115, pp.511–515.
- Schiefer, U. et al., 2003. *Praktische Neuroophthalmologie*, Kaden.
- Schindelin, J., Rueden, C. T. & Hiner, M. C. et al. (2015), "The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis", *Molecular Reproduction and Development*, PMID 26153368.
- Schmidt, R.F. & Thews, G., 2005. *Physiologie des Menschen*, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Schmitz-valckenberg, S. et al., 2008. Fundus autofluorescence imaging: Review and Perspectives. *Retina*, 28(3), pp.385–409.
- Schulze-Bonsel, K. et al., 2006. Visual acuities "hand motion" and "counting fingers" can be quantified with the Freiburg Visual Acuity Test. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 47(3), pp.1236–1240.
- Schuman, J.S., Puliafito, C.A. & Fujimoto, J.G., 2004. *Optical coherence tomography of ocular disease*,
- Scoles, D. et al., 2014. In Vivo Imaging of Human Cone Photoreceptor Inner Segments. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 55(7), pp.4244–4251.
- Slijkerman, R. et al., 2015. The pros and cons of vertebrate animal models for functional and therapeutic research on inherited retinal dystrophies. *Prog Retin Eye Res*, 48, pp.137–159.
- Spaide, R., 2012. Questioning optical coherence tomography. *Ophthalmology*, 119,

pp.2203–2204.

- Spaide, R.F., 2011. Applications for OCT Enhanced Depth Imaging, The technology is providing previously unavailable insights into choroidal pathologies. *Retina Today*, 9.
- Spaide, R.F. et al., 2008. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *American journal of ophthalmology*, 146(4), pp.496–500.
- Spaide, R.F., 2014. Visualization of the posterior vitreous with dynamic focusing and windowed averaging swept source optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol*, 158(6), pp.1267–1274.
- Spaide, R.F. & Curcio, C.A., 2011. Anatomical correlates to the bands seen in the outer retina by optical coherence tomography: Literature Review and Model. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 31(8), pp.1609–1619.
- Srinivasan, V.J. et al., 2006. High-Definition and 3-dimensional Imaging of Macular Pathologies with High-speed Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*, 113(11).
- Stargardt, K., 1909. Über familiäre, progressive Degeneration in der Makulagegend des Auges. *Albrecht von Graefes Arch Klin Exp Ophthal*, 71, pp.534–549.
- Staurengi, G. et al., 2014. Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: The IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121(8), pp.1572–1578.
- Steinmetz, R.L. et al., 1991. *Histopathology of incipient fundus flavimaculatus*.
- Stieger, K. & Lorenz, B., 2014. [Specific gene therapy for hereditary retinal dystrophies—an update]. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 231(3), pp.210–5.
- Stone, J.L. et al., 1992. Morphometric analysis of macular photoreceptors and ganglion cells in retinas with retinitis pigmentosa. *Archives of ophthalmology*, 110(11), pp.1634–1639.
- Stur, M. et al., 2007. Optical coherence tomography of the photoreceptor layer in the healthy eye and in eyes with hereditary macular dystrophy. *Spektrum der Augenheilkunde*, 21(1), pp.29–32.
- Stur, M. et al., 2007. Optische Kohärenztomographie der Photorezeptorschicht im gesunden Auge und bei hereditärer Makuladystrophie. *Spektrum der Augenheilkunde*, 21, pp.29–32.
- Su, R. et al., 2014. Accurate and automated image segmentation of 3D optical coherence tomography data suffering from low signal-to-noise levels. *J. Opt. Soc. Am. A*, 31(12), pp.2551–2560.
- Sullivan, J.M., 2009. Focus on Molecules: ABCA4 (ABCR) - An import-directed photoreceptor. *Experimental Eye Research*, 89, pp.602–603.
- Sun, H. & Nathans, J., 2001. Mechanistic studies of ABCR, the ABC transporter in photoreceptor outer segments responsible for autosomal recessive Stargardt disease. In *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. pp. 523–530.

- Swanson, E.A. et al., 1993. In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Optics letters*, 18(21), pp.1864–1866.
- Testa, F. et al., 2012. Correlation between photoreceptor layer integrity and visual function in patients with stargardt disease: Implications for gene therapy. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 53(8), pp.4409–4415.
- Theelen, T. et al., 2008. Fundus autofluorescence in patients with inherited retinal diseases: patterns of fluorescence at two different wavelengths. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 105(11), pp.1013–1022.
- Toth, C.A. et al., 1997. A comparison of retinal morphology viewed by optical coherence tomography and by light microscopy. *Archives of ophthalmology*, 115(11), pp.1425–1428.
- Traboulsi, E.I., 2012. *Genetic Diseases of the Eye*, New York: Oxford University Press. ISBN: 978-0-323-05714-1.
- Trepel, M., 2004. *Neuroanatomie Struktur und Funktion*, München, Jena: Urban und Fischer.
- Tsybovsky, Y., Molday, R.S. & Palczewski, K., 2010. The ATP-binding cassette transporter ABCA4: Structural and functional properties and role in retinal disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 703, pp.105–125.
- Wakabayashi, T. et al., 2009. *Principles and Applications of Modern Optical Coherence Tomography*.
- Walia, S. & Fishman, G.A., 2009. Natural history of phenotypic changes in Stargardt macular dystrophy. *Ophthalmic genetics*, 30(2), pp.63–68.
- Welsch, U. & Sobotta, J., 2003. *Lehrbuch Histologie*, München, Jena: Urban und Fischer.
- Weng, J. et al., 1999. Insights into the function of rim protein in photoreceptors and etiology of Stargardt's disease from the phenotype in abcr knockout mice. *Cell*, 98(1), pp.13–23.
- Wenzel, J.J., Piehler, A. & Kaminski, W.E., 2007. ABC A-subclass transporters--key regulators of molecular lipid transport. *Medizinische Klinik (Munich, Germany: 1983)*, 102(7), pp.524–530.
- Westeneng-Van Haaften, S.C. et al., 2012. Clinical and genetic characteristics of late-onset Stargardt's disease. *Ophthalmology*, 119(6), pp.1199–1210.
- Wirtitsch, M.G. et al., 2005. Ultrahigh resolution optical coherence tomography in macular dystrophy. *American Journal of Ophthalmology*, 140(6).
- Wojtkowski, M. et al., 2005. Three-dimensional retinal imaging with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Ophthalmology*, 112(10), pp.1734–1746.
- Wojtkowski, M., Kaluzny, B. & Zawadzki, R.J., 2012. New directions in ophthalmic optical coherence tomography. *Optometry and vision science: official publication*

of the American Academy of Optometry, 89(5), pp.524–42.

Xi, Q. et al., 2009. *Novel ABCA4 compound heterozygous mutations cause severe progressive autosomal recessive cone-rod dystrophy presenting as Stargardt disease*.

Zawadzki, R.J. et al., 2005. Adaptive-optics optical coherence tomography for high-resolution and high-speed 3D retinal in vivo imaging. *Optics Express*, 13(21), p.8532.

Zhang, K. et al., 2001. A 5-bp deletion in ELOVL4 is associated with two related forms of autosomal dominant macular dystrophy. *Nature genetics*, 27(1), pp.89–93.

Zinn, K.M. & Marmor, M.F., 1979. *The retinal Pigment Epithelium*, Harvard University Press.

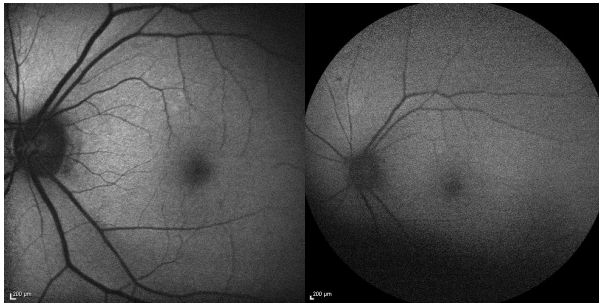
11 Anhang

Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen der 25 untersuchten Patienten
(links 30°, rechts 50°, wenn nicht in der jeweiligen Bildunterschrift anders bezeichnet)

Patientin mit subklinischem Befund (keiner Gruppe zugeordnet):

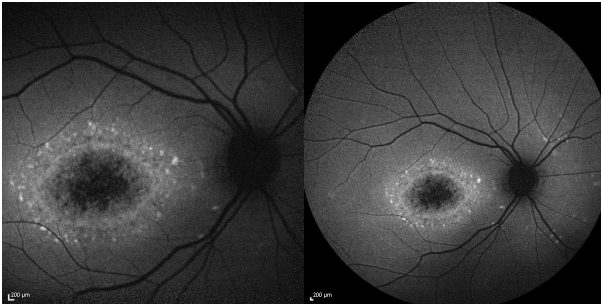


0138_04 rechtes Auge

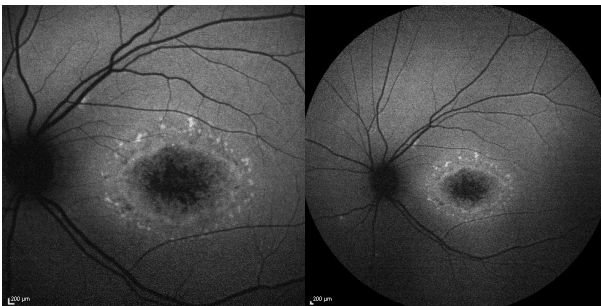


0138_04 linkes Auge

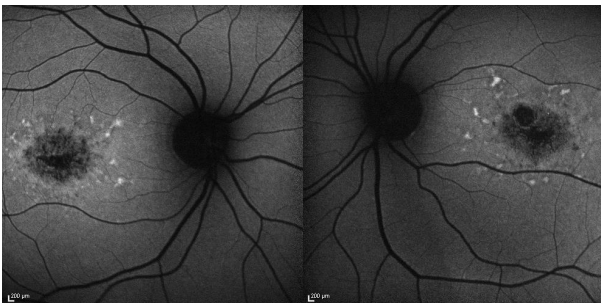
Patienten der Gruppe I:



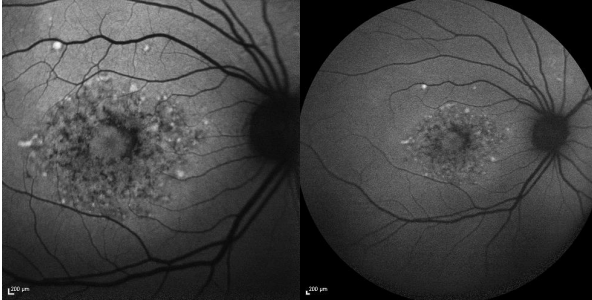
0138_01 rechtes Auge



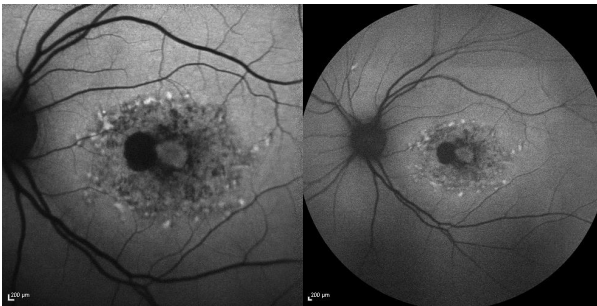
0138_01 linkes Auge



0504_01 rechtes/linkes Auge (30°)



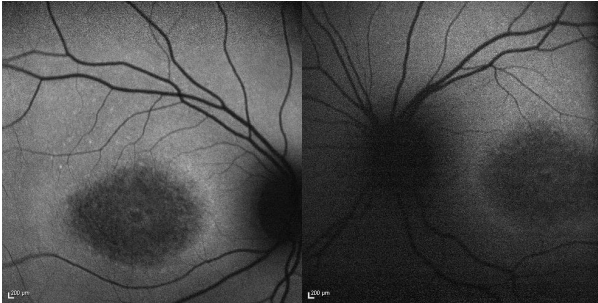
1499_01 rechtes Auge



1499_01 linkes Auge



2160_01 rechtes/linkes Auge (30°)



2479_01 rechtes/linkes Auge (30°)



2557_01 rechtes Auge



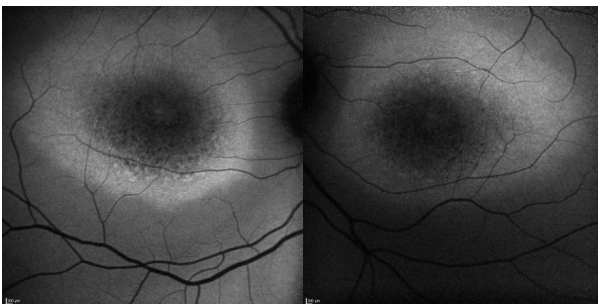
2557_01 linkes Auge



2557_04 rechtes Auge



2557_04 linkes Auge



2678_01 rechtes/linkes Auge (30°)

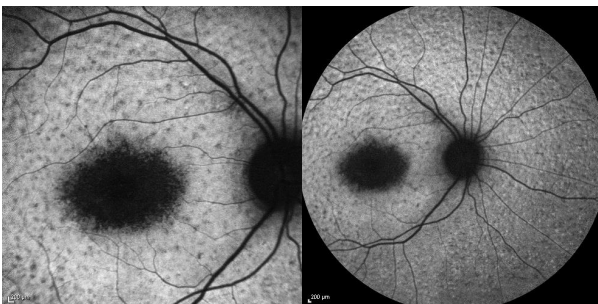


2689_01 rechtes Auge

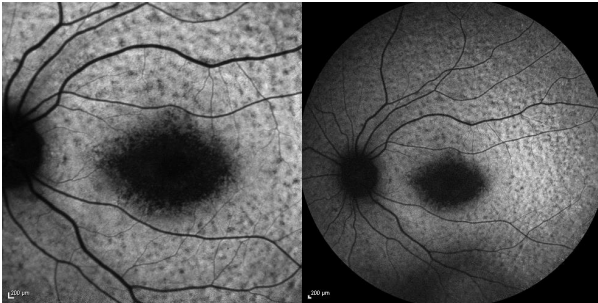


2689_01 linkes Auge

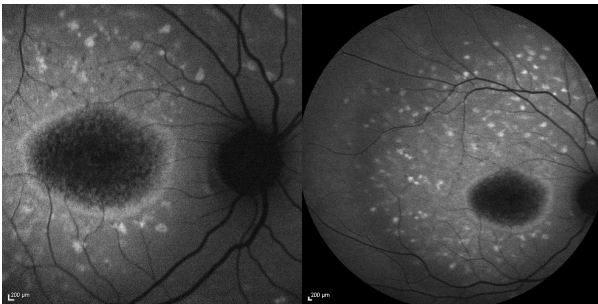
Patienten der Gruppe II:



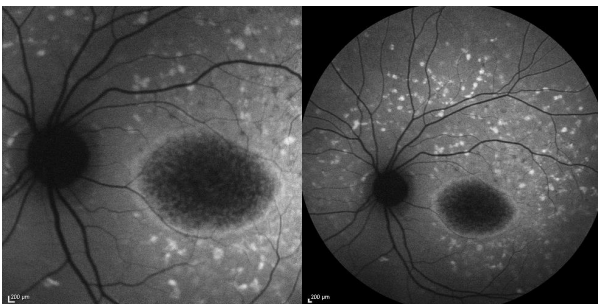
0483_01 linkes Auge



0483_01 linkes Auge



1827_01 rechtes Auge



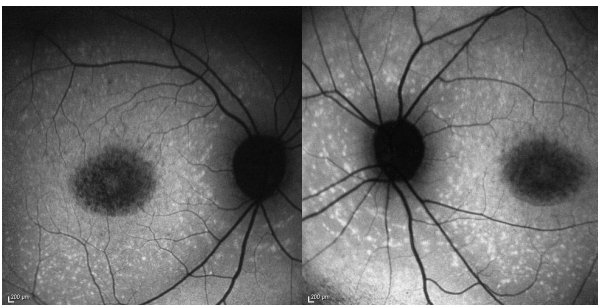
1827_01 linkes Auge



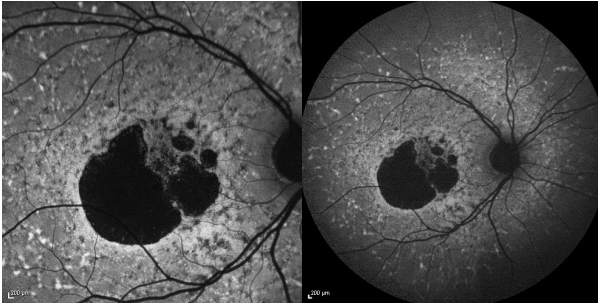
1827_04 rechtes Auge (2001)



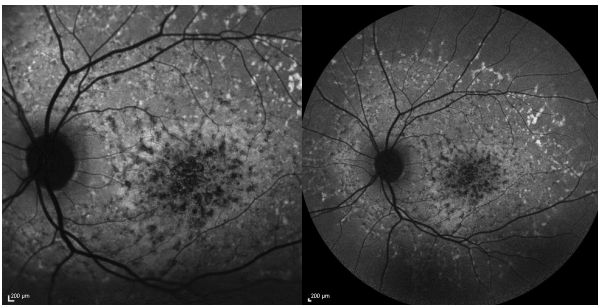
1827_04 linkes Auge (2001)



2018_01 rechtes/linkes Auge (30°)



2192_01 rechtes Auge



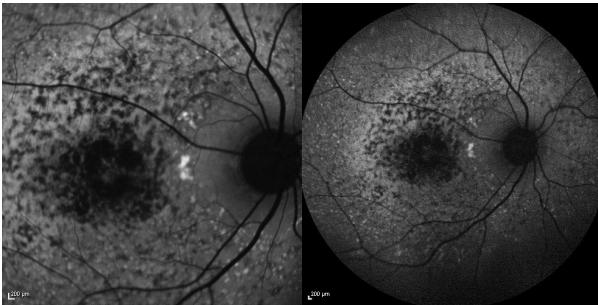
2192_01 linkes Auge



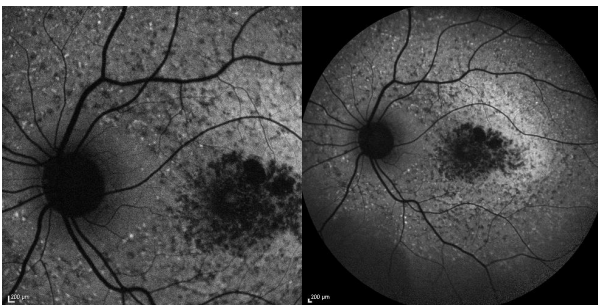
2203_01 rechtes Auge



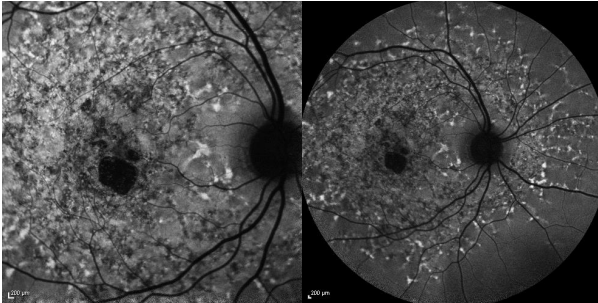
2203_01 linkes Auge



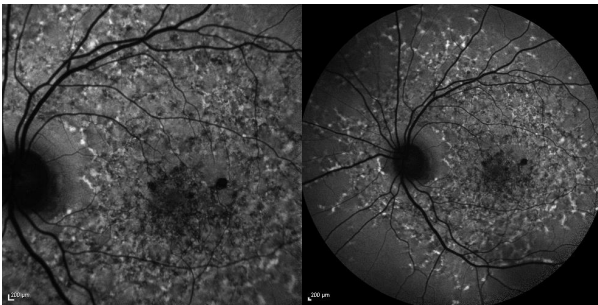
2400_01 rechtes Auge



2400_01 linkes Auge

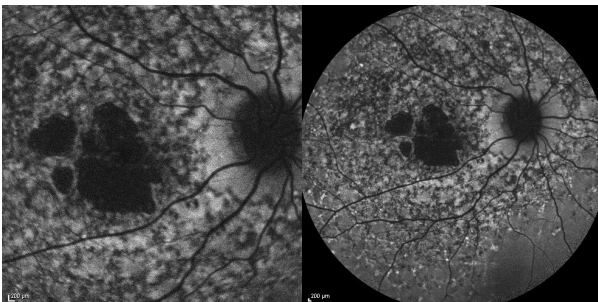


2709_01 rechtes Auge

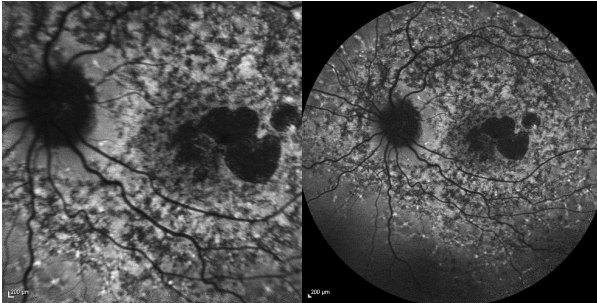


2709_01 linkes Auge

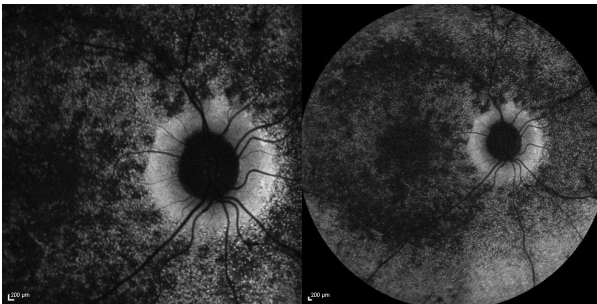
Patienten der Gruppe III:



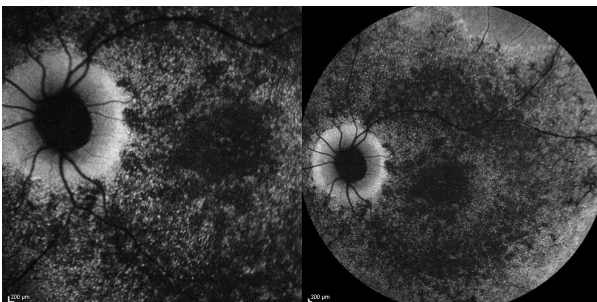
0033_01 rechtes Auge



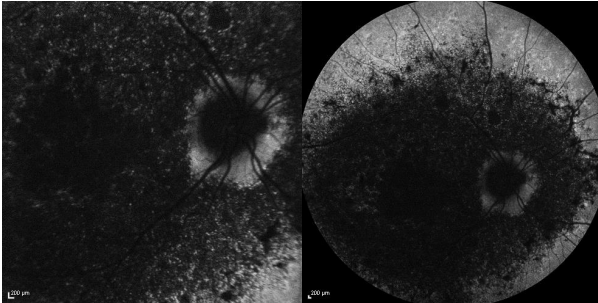
0033_01 linkes Auge



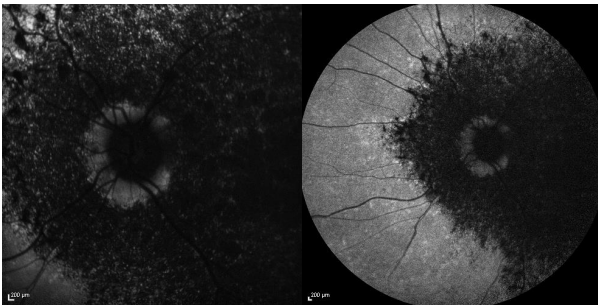
1087_01 rechtes Auge



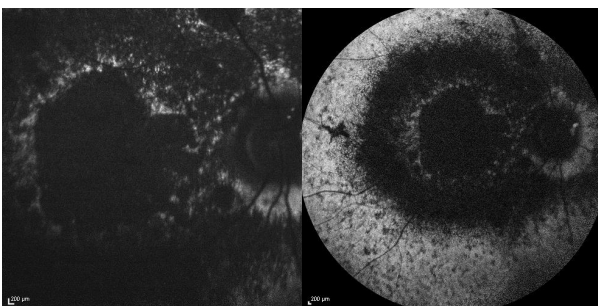
1087_01 linkes Auge



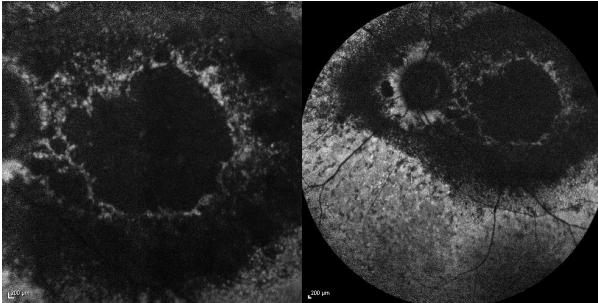
1348_01 rechtes Auge



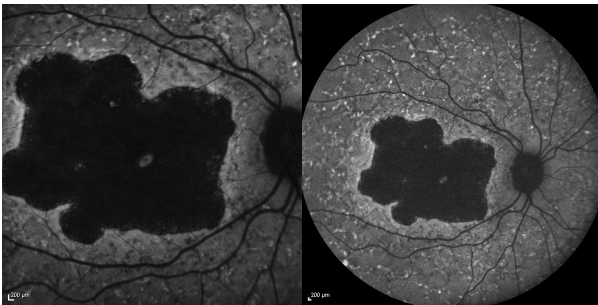
1348_01 linkes Auge



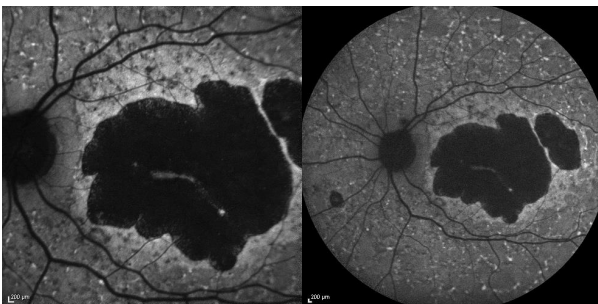
1882_01 rechtes Auge



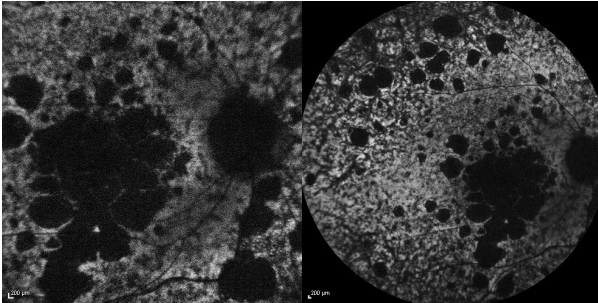
1882_01 linkes Auge



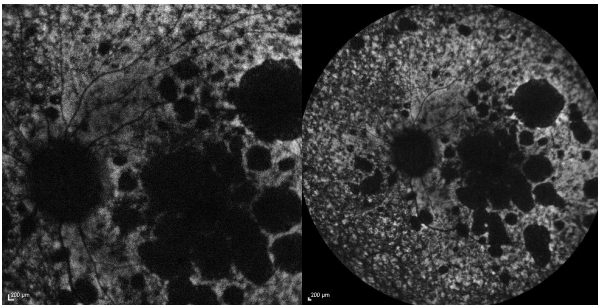
2101_01 rechtes Auge



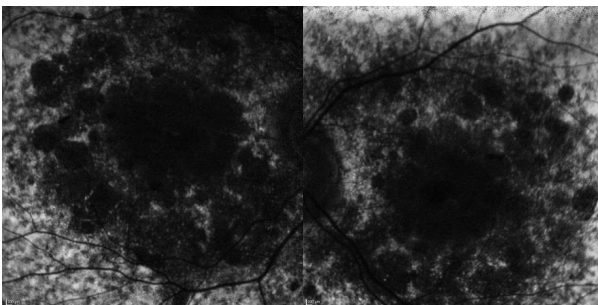
2101_01 linkes Auge



2394_01 rechtes Auge



2394_01 linkes Auge



2678_02 rechtes/linkes Auge (30°)

12 Ehrenwörtliche Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Gießen, den 08.09.2017

Aneta Skupin

13 Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Birgit Lorenz, der Direktorin der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum Gießen, sowie Herrn PD Dr. Markus Preising, dem Leiter des Labors für molekulare Ophthalmologie, für die Bereitstellung des interessanten Themas und die hervorragende und stets engagierte Betreuung bedanken.

Ferner danke ich Herrn Dr. Christoph Friedburg und Frau Olga Meier, die die elektrophysiologischen Untersuchungen bei den Patienten durchgeführt haben sowie Herrn Dr. Wadim Bowl für die Daten der funduskontrollierten Perimetrie.

Dank gilt dem ganzen Team der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, das die Patienten klinisch untersucht und betreut hat sowie natürlich den Patienten selbst für die Teilnahme an der Phänotypisierung.

Besonderer Dank gilt auch meinen Eltern für die liebevolle Unterstützung sowie meinen Freunden für ihre Hilfe.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFBENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6655-0



9 783835 196655 0